

Isotopenselektiver Nachweis von biologisch freigesetztem Stickstoffmonoxid

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina
zu Braunschweig
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)
genehmigte
D i s s e r t a t i o n

von Jörg Lauenstein
aus Wolfsburg

1. Referent:	Professor Dr. Karl-Heinz Gericke
2. Referent:	Professor Dr. Peter Jomo Walla
eingereicht am:	09.10.2006
mündliche Prüfung (Disputation) am:	12.12.2006

Druckjahr 2007

Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikationen

Lauenstein, J., Gericke, K.-H.:

Isotope selective detection of nitric oxide in human exhalation

Breath analysis for clinical diagnosis and therapeutic monitoring, World Scientific, Singapore (2005)

Baars-Hibbe, L., Gericke, K.-H., Lauenstein, J.:

Verfahren und Vorrichtung zur Messung von Stickstoffmonoxid-Konzentrationen

zum Patent angemeldet, Aktenzeichen 10 2004 035 916.4-52 (2004)

Tagungsbeiträge

Mitscherling, C., Lauenstein, J., Gericke, K.-H.:

Isotope-selective detection of nitric oxide from mammals and plants (Poster)

1st European chemistry congress, Budapest, Ungarn (2006)

Mitscherling, C., Lauenstein, J., Gericke, K.-H.:

Isotopenselektiver Nachweis von Stickstoffmonoxid mittels LIF (Vortrag)

Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, Heidelberg (2006)

Lauenstein, J., Mitscherling, C., Veselov, A. A., Vasyutinskii, O. S., Gericke, K.-H.:

Online-Messungen von Stickstoffmonoxid im menschlichen Exhalat (Vortrag)

Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, Heidelberg (2006)

Lauenstein, J., Gericke, K.-H.:

Isotope selective detection of nitric oxide in the sub-ppt range (Vortrag)

General Assembly of the European Geosciences Union, Wien, Österreich (2005)

Lauenstein, J., Veselov, A. A., Maul, C., Vasyutinskii, O. S., Gericke, K.-H.:

Nachweis von Stickstoffmonoxid im sub-ppt Bereich (Vortrag)

Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, Berlin (2005)

Lauenstein, J., Gericke, K.-H.:

Isotope selective detection of nitric oxide in human exhalation (Vortrag)

Breath gas analysis for medical diagnostics; Dornbirn, Österreich (2004)

Lauenstein, J., Gericke, K.-H.:

Isotope selective detection of nitric oxide in human exhalation (Poster)

The 3rd international conference on the biology, chemistry and therapeutic applications of nitric oxide, Nara, Japan (2004)

Lauenstein, J., Maul, C., Gericke, K.-H., Vasyutinskii, O. S.:

Isotopenselektiver Nachweis von Stickstoffmonoxid in der menschlichen Atemluft (Poster)

Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, München (2004)

Lauenstein, J., Baars-Hibbe, L., Gericke, K.-H., Maul, C., Plath, C.:

Nachweis von Stickstoffmonoxid in der menschlichen Atemluft im unteren ppt-Bereich (Vortrag)

Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, Hannover (2003)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Motivation	1
1.2	Nachweismethoden	3
1.3	Ziel der Arbeit	6
2	Theorie	7
2.1	Eigenschaften von NO	7
2.1.1	Physik und Chemie	7
2.1.2	Biologie und Umwelt	9
2.1.3	Physiologie	11
2.2	Laserinduzierte Fluoreszenz	14
2.2.1	Übergänge	15
2.2.2	Isotopenselektiver Nachweis mit LIF	30
2.2.3	Theoretische Nachweisgrenze	36
2.3	Zwei-Photonen-LIF	42
2.3.1	Übergänge	43
2.3.2	Theoretische Nachweisgrenze	51
2.4	Fluoreszenzlöschung	52
2.5	Streulicht	59
2.6	Laserlinienbreite	62
2.7	Spurengase in der Atemluft und etwaige Querempfindlichkeiten	64
2.8	Spektrallampen	75
3	Experimentelles	78
3.1	Das Laser-System	78
3.2	Die Zellen	82
3.3	Gaszufuhr	82
3.4	Die Detektionsoptik	84
3.5	Signalverarbeitung	85
3.6	Auswertungsmethoden	86

3.7	Spektrallampen	89
4	Ergebnisse	91
4.1	Charakterisierung des Experiments	91
4.1.1	Gemessene Spektren	91
4.1.1.1	Ein-Photonen-LIF	91
4.1.1.2	Zwei-Photonen-LIF	95
4.1.2	Fluoreszenzlöschung	98
4.1.2.1	Druckabhängigkeit des Signals	98
4.1.2.2	Fluoreszenzlöschungskonstanten	102
4.1.2.3	Fluoreszenzlebensdauer	105
4.1.3	Signal-zu-Rausch-Verhältnis	107
4.1.3.1	Nachweisgrenze	110
4.1.3.2	Signalmittelung	112
4.1.4	Laserlinienbreite	113
4.1.5	Einfluss verschiedener Bauteile auf die Messungen	115
4.1.5.1	Das Lasersystem	115
4.1.5.2	Die Photomultiplier	116
4.1.5.3	Die Spannungsquellen	117
4.1.5.4	Der Boxcar Integrator	118
4.1.5.5	Intra- und extraexperimentelle Reproduzierbarkeit	119
4.1.6	Verhältnis der Isotopomere	120
4.2	Kalibrierung des Systems	120
4.2.1	Kalibriergeraden	121
4.2.2	Standardadditionsmethode	123
4.3	Untersuchung von Atemgas	123
4.3.1	Einfluss der Probennahme auf die Signalstärke	123
4.3.2	Tracer-Experimente	125
4.3.3	Online-Messungen	127
4.4	NO-Emissionen der menschlichen Haut	131
4.5	NO-Emissionen von Pflanzen	132
4.6	Spektrallampen	139
5	Zusammenfassung	144
6	Literaturverzeichnis	147
7	Anhang	158

Abkürzungen

AC Alternating Current

ARDS Acute Respiratory Distress Syndrom

CLD Chemilumineszenz Detektion

CRDS Cavity-Ring-Down-Spectroscopy

DC Direct Current

DO Detektionsoptik

EPR Electron Paramagnetic Resonance

ESR Electron Spin Resonance

FIA Fluss Injektions Analyse

FL Fluoreszenzlöschung

GC Gaschromatographie

GC-QMS Gaschromatographie-Quadrupolmassenspektrometrie

HPLC High Performance Liquid Chromatotography

HV High Voltage Hochspannungsquelle

ICCD Intensified Charge Coupled Device

LIF Laserinduced Fluorescence

LMR Lasermagnetic Resonance

MFC Mass Flow Controller

MS Massenspektrometrie

NADH Nicotinamidadenindinucleotidhydroeen

NADPH Nicotinamidadenindinucleotidphosphat

NO Stickstoffmonoxid

OSHA Occupational Safety & Health Administration

PE Polyethylen

PM Photomultiplier

PMT Photomultiplier Tube

ppb parts per billion

ppm parts per million

ppt parts per trillion

PTR-MS Proton-Transfer-Reaction-Mass Spectrometry

PVF Polyvinylfluorid

REMPI Resonant Enhanced Multiphoton Ionisation

REMPI-TOF Resonant Enhanced Multiphoton Ionisation - Time Of Flight

ROC Reactive Organic Compounds

sccm Standardkubikzentimeter

SHG Second Harmonic Generation

SCR Selective Catalytic Reduction

U-I Strom-Spannung

VOC Volatile Organic Compound

VUV Vakuum Ultraviolett

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Motivation

Ende der siebziger Jahre waren einige Forschergruppen auf der Suche nach einem Molekül, das vom menschlichen Organismus zur Regulation des Blutdrucks eingesetzt wird. Da dieses Molekül von den Endothelzellen gebildet wird, wurde es von den Medizinerinnen als EDRF (Endothelium Derived Relaxing Factor) bezeichnet. Bekannt war, dass EDRF eine kurze Lebenserwartung im Körper hat und deswegen von den Endothelzellen abhängig vom Bedarf gebildet wird. Neben der Reaktionsfreudigkeit waren die Guanylsylzyklase und der vage Zusammenhang mit der Wirkung von Nitroglycerin bekannt. Im Jahre 1986 gelang dann der Durchbruch: EDRF konnte eindeutig als NO identifiziert werden.[1, 2] Das kleine Molekül, das so viele negative Eigenschaften hat, wurde plötzlich essentiell. Diese Entdeckung brachte eine Lawine ins Rollen und plötzlich interessierte man sich wieder für NO. Für ihre Arbeiten über die Rolle von NO im menschlichen Körper inklusive der Identifizierung von NO als EDRF erhielten Robert F. FURCHGOTT, Louis J. IGNARRO und Ferid MURAD 1998 den Nobelpreis für Medizin oder Physiologie. 1996 wurde die *Nitric Oxide Society* gegründet, die alle zwei Jahre eine Konferenz über neueste Erkenntnisse in der Forschung am NO abhält. Seit 1997 erscheint die Zeitschrift *Nitric Oxide* im niederländischen Verlag ELSEVIER.

Heute ist bekannt, dass NO neben dem regulierenden Einfluss auf den Blutdruck noch für viele andere Funktionen des menschlichen Organismus verantwortlich ist. Auf die verschiedenen Funktionen von NO im Menschen, in Tieren, in Pflanzen, in Böden, in der Atmosphäre und die Relevanz in Umweltfragen wird im theoretischen Teil dieser Arbeit noch näher eingegangen.

Es gibt einen gemeinsamen Nenner für die eben aufgeführten Themengebiete, die sich mit der Forschung rund um NO beschäftigen: NO muss nachgewiesen werden. Hier manifestieren sich einige Schwierigkeiten, denn zum Einen ist NO ein Radikal und damit unter bestimm-

ten Umständen sehr reaktiv, was die Lebensdauer stark verringert und zum Anderen sind die Konzentrationen, in denen NO normalerweise in biologischen Systemen vorkommt, sehr gering, oftmals nur im unteren ppb-Bereich angesiedelt, so dass an die Messverfahren bestimmte Anforderungen gestellt werden. Gerade im Bereich der medizinischen Forschung ist es wichtig, einen Probanden vermessen zu können, ohne in seinen Körper eingreifen zu müssen, mit anderen Worten: Die Messung soll nichtinvasiv erfolgen. Als nichtinvasive Methode, um den NO-Haushalt im Menschen zu untersuchen, hat sich die Atemgasanalyse etabliert. Dabei ist es das erklärte Ziel der Mediziner, die Atemluftanalyse sukzessive zum Diagnostik- und Therapieinstrumentarium auszubauen und diese Technik, die sich eben gerade durch ihre Schnelligkeit und Nichtinvasivität auszeichnet, langfristig auch im Krankenhausalltag zu etablieren.

Es werden also Apparaturen benötigt, die NO sensitiv, selektiv, präzise und schnell messen können. Dabei muss zwischen experimentellen Aufbauten und kommerziell erhältlichen Geräten unterschieden werden. Die experimentellen Aufbauten dienen hauptsächlich der Entwicklung der Messmethode an sich, während die kommerziell erhältlichen NO Sensoren zur Erforschung der NO-Metabolismen genutzt werden. Eine geeignete Methode, um diese Metabolismen näher zu untersuchen, stellen so genannte Tracer-Experimente dar. Dabei werden Vorläufermoleküle (sog. Precursor) mit einem Isotop angereichert und speziell dieses Isotop (oder nach Umbildung Isotopomer) nachgewiesen. Bei NO bieten sich die natürlich vorkommenden Stickstoffisotope für Tracer-Experimente an, ^{14}N kommt mit einer relativen Häufigkeit von 99,63 % vor, während das Isotop ^{15}N nur mit 0,37 % vorkommt.[3] Bezogen auf die natürliche Häufigkeit von den Isotopomeren von NO bedeutet das bei Berücksichtigung der Isotopenverhältnisse von Sauerstoff¹, dass das $^{14}\text{N}^{16}\text{O}$ Molekül eine relative Häufigkeit von 99,39 % und das zweithäufigste Isotopomer $^{15}\text{N}^{16}\text{O}$ eine relative Häufigkeit von 0,37 % besitzt. Bei einem durchschnittlichen NO Anteil von ca. 10 ppb in der Atemluft bedeutet das, dass die Detektionsgrenze unterhalb von 37 ppt NO sein muss, um $^{15}\text{N}^{16}\text{O}$ direkt nachweisen zu können.²

Die einzige bekannte Methode, die die benötigte Selektivität mit der erforderlichen Sensitivität paart und dazu auch noch eine schnelle Signalantwort verspricht, ist die Methode der laserinduzierten Fluoreszenz, die in diesem Arbeitskreis hierfür entwickelt wurde.

¹Das häufigste Sauerstoffisotop ^{16}O hat eine relative Häufigkeit von 99,762 %.

²Da sich alle Angaben auf das ^{16}O Sauerstoffisotop beziehen, wird im Folgenden auf eine Bezeichnung der Sauerstoffisotope verzichtet.

1.2 Nachweismethoden

Im Folgenden werden die bekanntesten Methoden zum Nachweis von NO aufgeführt. Die Reihenfolge erfolgt alphabetisch:

Absorptionsspektroskopie [4–10] Bei der Absorptionsspektroskopie wird die Transmission einer Probe vermessen und daraus auf die vorhandene Konzentration geschlossen. Für eine genaue Bestimmung muss sichergestellt werden, dass nur eine absorbierende Spezies in der Probe enthalten ist. Dementsprechend muss die Wellenlänge gewählt werden und querempfindliche Stoffe aus dem Stoffgemisch entfernt werden. Die Sensitivitäten sind in der Regel im ppm-Bereich anzusiedeln, spezielle Varianten der Absorptionsspektroskopie können sensitiver sein. Prinzipiell ist es möglich, alle Moleküle, die Licht absorbieren, zu vermessen. Die Absorptionsspektroskopie ist kalibrierungsfrei, da die Absorption streng dem Lambert-Beerschen Gesetz folgt und die enthaltene Konzentration bei bekanntem Absorptionsquerschnitt und -länge über die transmittierte Lichtintensität berechnet werden kann. Absorptionsspektroskopie wird häufig im infraroten Spektralbereich, aber auch im ultravioletten und sichtbaren durchgeführt. Spezielle Varianten der Absorptionsspektroskopie sind die Cavity-Ringdown-Spektroskopie und die LMR-Spektroskopie.

CLD [11–13] Dies ist die am häufigsten benutzte Methode, um NO nachzuweisen. Dabei wird NO mit einer Chemikalie umgesetzt, sodass ein angeregtes Produkt entsteht. Dieses Produkt fluoresziert beim relaxieren, was gemessen werden kann. Da diese Fluoreszenz chemisch erzeugt wurde, nennt man sie Chemilumineszenz. Die Methode ist selektiv für NO und wird in kommerziell erhältlichen Geräten verwendet. Die Schnelligkeit und die Sensitivität sind von der Größe und der Qualität der jeweiligen Geräte abhängig. Es können Detektionslimits bis zu einigen 10 ppt erreicht werden. Der kommerziell oft benutzte Mechanismus basiert auf einer Reaktion von NO mit Ozon. Etwa 30 % des gebildeten Kohlenstoffdioxids sind elektronisch angeregt und relaxieren über Fluoreszenz, die detektiert werden kann.

CRDS [14–16] Die Cavity-Ringdown-Spektroskopie ist eine besondere Form der Absorptionsspektroskopie. Dabei wird gemessen, wieviel Licht durch eine Probe, die NO enthält, absorbiert wird. Im Gegensatz zur (in der Absorptionsspektroskopie) oft verwendeten Multipass-Zelle kommt hier eine Kavität zur Anwendung, die zu beide Seiten durch einen hochreflektierenden Spiegel verschlossen wird. Der Laserstrahl dringt also nur zu einem geringen Anteil in die Kavität ein, der Austritt ist dementsprechend noch geringer. Die hinter dem Austrittsspiegel messbare Lichtintensität ist eine exponentielle Abklingkurve. Die Abklingzeit wird gemessen und verkürzt sich durch etwaige

Absorptionen in der Zelle. So können Rückschlüsse auf die in der Zelle vorliegenden Gase und deren Konzentrationen gezogen werden. Der Vorteil der CRDS ist die schnelle Signalgebung und die Tatsache, dass sie, wie alle Absorptionsspektroskopie-Arten, kalibrierfrei ist. Außerdem lassen sich mit CRDS eine Vielzahl von VOCs nachweisen. Nachteile sind die Sensitivität und die Selektivität. Da bei der CRDS üblicherweise Laser im infraroten Bereich zur Anwendung kommen, sind Querempfindlichkeiten nur schwer auszuschließen, bei der Atemgasanalyse ist insbesondere Wasser als Breitband-Absorbator ein Störfaktor. Die Detektionsgrenze der CRDS liegt oftmals im mittleren ppb-Bereich, so dass viele VOCs mit CRDS nicht oder nur schwer nachzuweisen sind.

LIF [17–20] Die laserinduzierte Fluoreszenz (mit einem anregenden Photon) wird häufig dazu benutzt, um NO bei Verbrennungsprozessen zu detektieren. Ein Laser regt das nachzuweisende Molekül an und die rotverschobene Fluoreszenz wird gemessen. Die Methode eignet sich auch für biologisch erzeugtes NO, wie in dieser Arbeit noch dargestellt wird, da sie sowohl sensitiv, selektiv, als auch schnell genug ist, NO bis in den unteren ppt-Bereich präzise vermessen zu können.

ESR [21, 22] Eine Probe mit einem permanent magnetischen Dipol wird von einem statischen Magnetfeld umgeben und dann die Mikrowellenabsorption gemessen. Da NO als Radikal über ein solches permanentes Dipolmoment verfügt, kann es mit dieser Methode vermessen werden. Die erreichten Sensitivitäten liegen oberhalb vom verwandtem LMR. ESR wird auch als EPR bezeichnet.

LMR [23, 24] Dies ist eine Variation der Absorptionsspektroskopie, bei der nicht die Wellenlänge des Lasers verändert wird, sondern ein von außen auf die Probe angelegtes Magnetfeld moduliert wird. Durch die Einwirkung des Magnetfeldes auf die Energieniveaus spalten entartete Energieniveaus auf (Zeeman-Effekt) und es können so z.B. verschiedene Isotopomere vermessen werden. Die Sensitivität liegt im ppb-Bereich.

Massenspektrometrie [25–27] Das Prinzip der Massenspektrometrie ist eine Ionisierung des zu vermessenen Gasgemisches und die Trennung der einzelnen Bestandteile durch die verschiedenen Massen und die dadurch bedingten Abdriftungen in einem elektrischen Feld. Mit Massenspektrometrie kann fast jedes Molekül nachgewiesen werden, jedoch erschweren Fragmentierungen bei größeren Molekülen die eindeutige Zuweisung. Für die Atemgasanalyse kann die MS modifiziert oder mit anderen Nachweismethoden gekoppelt werden, z.B. GC-QMS, PTR-MS. Die Nachweisgrenzen dieser Methoden für NO liegen typischerweise bei wenigen ppb.

REMPI [28–31] Bei dieser Technik wird NO mit Hilfe eines Lasers zuerst elektronisch angeregt und dann ionisiert. Die Ionen werden meistens in einem Flugzeitmassenspek-

trometer nachgewiesen (REMPI-TOF). Durch die schrittweise resonante Anregung ist die Technik sehr selektiv. Mit dem TOF-Massenspektrometer können einzelne Ionen detektiert werden. Die Nachteile von REMPI sind der aufwändige experimentelle Aufbau und die sehr geringe absolute Konzentration in der Messkammer, da mit einem Molekularstrahl gearbeitet wird.

Zwei-Photonen-LIF [32–34] Es gibt verschiedene Arten der Zwei-Photonen-LIF Spektroskopie, die unterschieden werden müssen. Der gemeinsame Nenner ist die Anregung mit zwei Photonen in einen Zustand, der durch Fluoreszenz relaxiert. Die häufiger verwendete Variante benutzt einen elektronischen Übergang im UV, der durch Aufnahme von zwei gleichen Photonen im sichtbaren Spektralbereich erreicht wird. Die Vorteile dieser Methodik gegenüber der Ein-Photonen-LIF Spektroskopie ist die Verwendung von sichtbarem Laserlicht, was bei Wellenlängen unterhalb von 210 nm prinzipiell von Vorteil ist und eine Energieverminderung wegen Frequenzverdoppelung verhindert. Außerdem kann das Streulicht durch die Verwendung von Solar-Blind-PMT effizienter und ohne Verluste von Fluoreszenzlicht besser vom Signal getrennt werden. Der Nachteil der Methode ist der viel geringere Absorptionsquerschnitt. Ein ausführlicher Vergleich der beiden LIF-Methoden wird in Abschnitt 2.3 folgen.

Eine andere Variante der Zwei-Photonen-LIF Spektroskopie wurde von SANDHOLM *et al.* verwendet.[35] Dabei wurde NO zunächst mit einem UV-Laser in einen angeregten Zustand versetzt, genau wie beim Ein-Photonen-LIF, aber ein zweiter Laser promoviert anschließend das Molekül in einen höheren elektronischen Zustand. Damit wird eine kurze Fluoreszenzlebensdauer und eine bessere Trennung von Streu- und Fluoreszenzlicht erreicht. Diese Methode ist zwar experimentell anspruchsvoll, vereint aber die Vorteile von Ein-Photonen-LIF und Zwei-Photonen-LIF.

Es gibt noch eine Reihe weiterer NO-Nachweise, die zum Großteil indirekter Natur sind.[12, 13, 36, 37] Diese Nachweismethoden zielen besonders auf einen Nachweis *in vitro* hin, bei dem spektroskopische Methoden oft sehr schlecht oder gar nicht angewendet werden können. Die Firmen *World Precision Instruments* und *Sievers* sind führend in der kommerziellen NO Detektion. *World Precision Instruments* bietet unter anderem auch Geräte an, die den NO Gehalt direkt im Blut messen können.[38, 39] Dabei wird eine Chemikalie mit NO umgesetzt, das Stoffgemisch aufgetrennt und schließlich das Reaktionsprodukt nachgewiesen.

1.3 Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war der Aufbau und die Inbetriebnahme einer Apparatur, mit der NO isotopenselektiv im ppt-Bereich nachgewiesen werden kann. Diese Apparatur sollte hinsichtlich Selektivität, Sensitivität und Reproduzierbarkeit optimiert werden, damit NO sowohl in der menschlichen Atemluft, als auch in der Umgebungsluft von Pflanzen verlässlich messbar ist. Es sollte das Prinzip der laserinduzierten Fluoreszenz verwendet werden, wobei eine Anregung mit einem Photon eine einfachere Handhabung und eine höhere Sensitivität verspricht. Die Anlage umfasst ein Lasersystem, das einen durchstimmbaren Laserstrahl im ultravioletten Bereich generiert, eine Zelle, die mit den zu untersuchenden Gasmischungen gespeist werden kann und eine Detektionsoptik mit nachgeschalteter Auswerteelektronik, die die entstehende Fluoreszenz aufnimmt, in ein elektrisches Signal umwandelt und die Daten an einen Computer weiterleitet. Die Verwendung der Apparatur sollte durch Versuchsreihen dargelegt werden. Dazu sollten die NO-Konzentrationen von Atemluft, Hautemissionen und Pflanzenemissionen gemessen werden. Die Atemluftuntersuchungen sollten in Echtzeit möglich gemacht werden, außerdem sollten Tracer-Experimente mit isotoopenmarkierten Vorläufermolekülen durchgeführt werden, ohne den NO-Gehalt durch Aufkonzentration zu erhöhen.

Kapitel 2

Theorie

2.1 Eigenschaften von NO

2.1.1 Physik und Chemie

NO ist ein farbloses Gas, das bei $-151,8\text{ °C}$ siedet und bei $-163,6\text{ °C}$ schmilzt. Flüssiges NO ist blau. Die Dichte bei Standardbedingungen beträgt $1,3402\text{ g/L}$ bei einer molaren Masse von $30,01\text{ g/mol}$. [3] NO ist eine stark exotherme Verbindung, die sich bei hohen Temperaturen nach der Reaktion $180,62\text{ kJ} + \text{N}_2 + \text{O}_2 \rightleftharpoons 2\text{ NO}$ bilden lässt. Der kritische Druck von NO liegt bei $6,4\text{ MPa}$ und die kritische Temperatur bei -93 °C . In einem Liter Wasser können sich bei 298 K 67 mg NO lösen. NO wird als giftig, brandfördernd und gesundheitsschädlich (Xn) eingestuft (R-Sätze 8-16-34, S-Sätze 9-17-26-28-36/37/39-45), der MAK-Wert liegt bei 25 ppm . [40] NO ist ein metastabiles Radikal, das bei Temperaturen oberhalb von 450 °C in die Elemente zerfällt. Mit oxidierenden Substanzen reagiert es schnell zu Stickstoffdioxid.

Die Herstellung von NO kann über eine Reaktion von Stickstoff und Sauerstoff bei über 3000 K im elektrischen Flammenbogen erfolgen, wobei NO meistens als Edukt für die Salpetersäuresynthese genutzt wird. Bekannte Verfahren hierfür sind das Birkeland-Eyde-Verfahren, das Schönherr-Verfahren und das Pauling-Verfahren. Die heute hauptsächlich genutzte Methode zur industriellen Herstellung von NO ist die katalytische Ammoniakverbrennung (Ostwald-Verfahren). Im Labor kann NO durch die Reduktion von Salpetersäure gewonnen werden. [3]

NO ist ein Radikal, das freie Elektron ist dem antibindenden π^* Orbital zuzuschreiben. Das Molekülorbitalschema von NO ist in Abbildung 2-1 dargestellt. Die experimentell bestimmte Bindungslänge beträgt 116 pm und liegt so zwischen einer Doppel- und einer Dreifachbindung. Abbildung 2-2 zeigt die mesomeren Grenzstrukturen von NO. Die Ionisierungs-

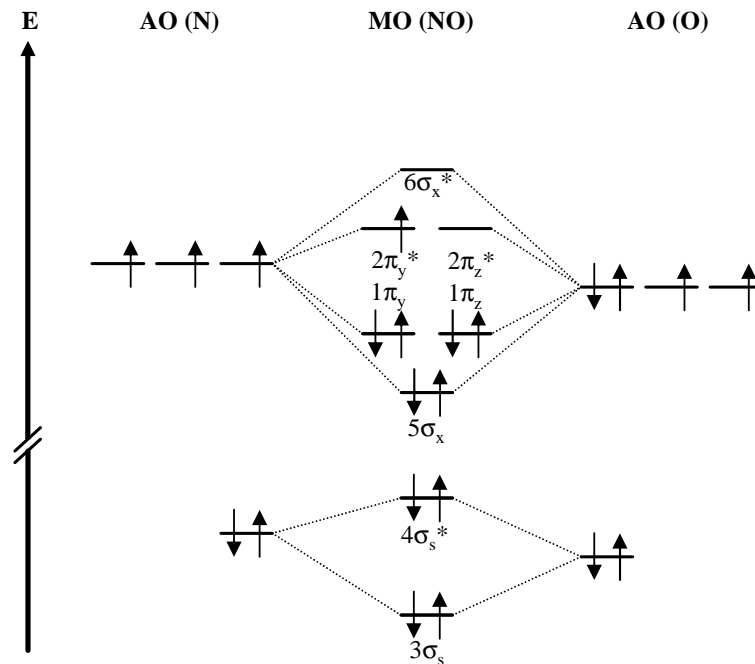


Abb. 2-1: Das Molekülorbital-Diagramm von NO.

energien betragen 9,27 eV für das ungebundene Elektron und 15,65 eV für das nächste Elektron.[3, 41, 42]

Die Reaktion von NO mit Sauerstoff zu Stickstoffdioxid ist exotherm (70,71 kJ/mol) und erfolgt nach einem Geschwindigkeitsgesetz dritter Ordnung ($v = k \cdot c_{NO}^2 \cdot c_{O_2}$), wobei die Reaktion keine trimolekulare Reaktion ist, sondern aus zwei Folgereaktionen mit Stickstofftrioxid als Zwischenprodukt besteht. Die Geschwindigkeitskonstante wird mit $7,3 \cdot 10^3 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ angegeben.[43, 44] Trotz seines radikalischen Charakters neigt NO nur gering zur Dimerisierung, Dimere können erst bei sehr tiefen Temperaturen nachgewiesen werden.



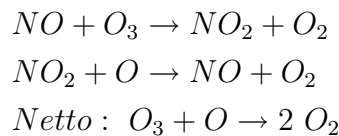
Abb. 2-2: Die mesomeren Grenzstrukturen von NO.

Die natürliche Häufigkeit der Stickstoff- und Sauerstoffisotopomere und die daraus resultierenden natürlichen Häufigkeiten für NO ergeben sich wie folgt:[3]

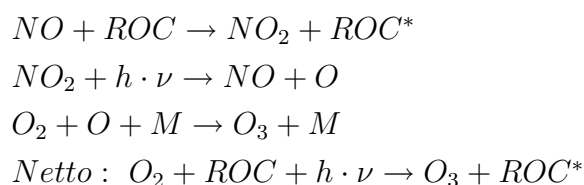
Sauerstoff	^{16}O	99,762 %	\Rightarrow	$^{14}\text{N}^{16}\text{O}$	99,3928806 %	
	^{17}O	0,038 %		$^{15}\text{N}^{16}\text{O}$	0,3691194 %	
	^{18}O	0,20 %		$^{14}\text{N}^{18}\text{O}$	0,19926 %	
Stickstoff	^{14}N	99,63 %		$^{14}\text{N}^{17}\text{O}$	0,0378594 %	
				$^{15}\text{N}^{18}\text{O}$	0,00074 %	
				$^{15}\text{N}^{17}\text{O}$	0,0001406 %.	
	^{15}N	0,37 %				

2.1.2 Biologie und Umwelt

Aus dem Blick der Umweltchemie betrachtet ist NO ein Schadstoff, da NO einerseits am Ozonabbau in der Stratosphäre beteiligt ist, andererseits die Ozonbildung am Boden fördert. Der katalytische Ozon-Abbau läuft nach folgendem Mechanismus ab:[45]



Der molekulare, hochreaktive Sauerstoff entsteht durch die Photolyse von NO_2 . Die am Boden ablaufenden Vorgänge zur unerwünschten Ozon- und damit Smogbildung werden nur indirekt von NO eingeleitet, die eigentliche Substanz ist das Stickstoffdioxid, das aus NO und ROC aus Autoabgasen entsteht:[46]



Selbstverständlich läuft auch hier der durch NO katalysierte Ozonabbau ab, aber abhängig von der ROC-Konzentration kann die NO_2 -Konzentration in dem Maße ansteigen, dass ein signifikanter Anstieg von Ozon in Bodennähe erkennbar ist. Da dieser Effekt auch abhängig von der Lichteinstrahlung ist, ist eine Gefährdung durch Smog besonders im Sommer wahrscheinlich.

Tab. 2-1: Global vorkommende NO_x -Quellen und deren anthropogener Anteil.[47]

NO_x -Quelle	Menge / $\text{Mt} \cdot \text{a}^{-1}$	Ursprung
fossile Kraftstoffverbrennung	22 ± 7	100% anthropogen
Verbrennung von Biomasse	$6,7 \pm 3,7$	95% anthropogen
Böden und Pflanzen	$5,5 \pm 2,2$	40% anthropogen
Blitz	$2,5 \pm 1,5$	natürlich
Einbringung durch die Stratosphäre	$0,5 \pm 0,1$	10% anthropogen
Flugverkehr	$0,55 \pm 0,05$	100% anthropogen
Ammoniakoxidation	$1,0 \pm 0,5$	60% anthropogen

NO entsteht bei Verbrennungsprozessen fossiler Brennstoffe, wird aber auch von Pflanzen, Böden, Menschen und Tieren produziert. Tabelle 2-1 zeigt eine Übersicht der größten NO -Quellen und den anthropogenen Anteil. Menschen und Tiere sind in dieser Auflistung nicht vorhanden, weil ihr Beitrag zu gering ist.

Durch den hohen Anteil der anthropogen erzeugten NO_x -Gase werden der Industrie Auflagen gemacht, in welchem Umfang sie den NO_x Ausstoß zu verringern haben. Zur Verringerung der NO_x -Gase bei Otto- und Dieselmotoren kann die SCR-Technik angewendet werden, bei der NO mit flüssigem Harnstoff im Abgastrakt umgesetzt wird. Die in der Atmosphäre vorkommenden NO -Konzentrationen sind sehr stark abhängig von den äußeren Umständen und schwanken zwischen wenigen *ppt* in der Stratosphäre und einigen *ppb* in urbanen Regionen.

Der in Böden ablaufende Metabolismus, der schließlich zur Erzeugung von NO und dessen Ausstoß sorgt, begründet sich auf Nitrifikation von Ammonium. Dabei setzen Bakterien Ammonium, das beim Absterben von Biomasse entsteht, zuerst zu Nitrat und dann zu NO um. Der konkurrierende Effekt, die Denitrifikation, ist für die Produktion von Stickstoffdioxid und Distickstoffoxid verantwortlich. Die Anwesenheit von Wasser und Sauerstoff beeinflusst die Prozesse erheblich.[48–52]

Das vom Menschen zugesetzte Nitrat dient in erster Linie der Pflanzendüngung. Pflanzen brauchen Nitrat, weil es für sie die Hauptquelle für Stickstoff darstellt, den sie für die Synthese von Aminosäuren und Eiweißen benötigen. Das Nitrat wird vom Enzym Nitratreduktase zu Nitrit reduziert. Da Nitrit für die Pflanze giftig ist, darf nur soviel Nitrit gebildet werden, wie gebraucht wird. Die Nitratreduktase kann Nitrit in Anwesenheit von NADH bzw. NADPH^1 auch weiter zu Stickstoffoxiden reduzieren, welche dann entweder von der Pflanze

¹NADH ist in jeder Zelle vorhanden und wird von Menschen, Tieren und Pflanzen zur Energiegewinnung benutzt. Als elektronenübertragendes Coenzym nimmt es an zahlreichen Redoxreaktionen im Stoffwechsel teil. NADPH ist ein Wasserstoff transportierendes Coenzym, das bei Stoffwechselreaktionen in Zellen beteiligt ist.

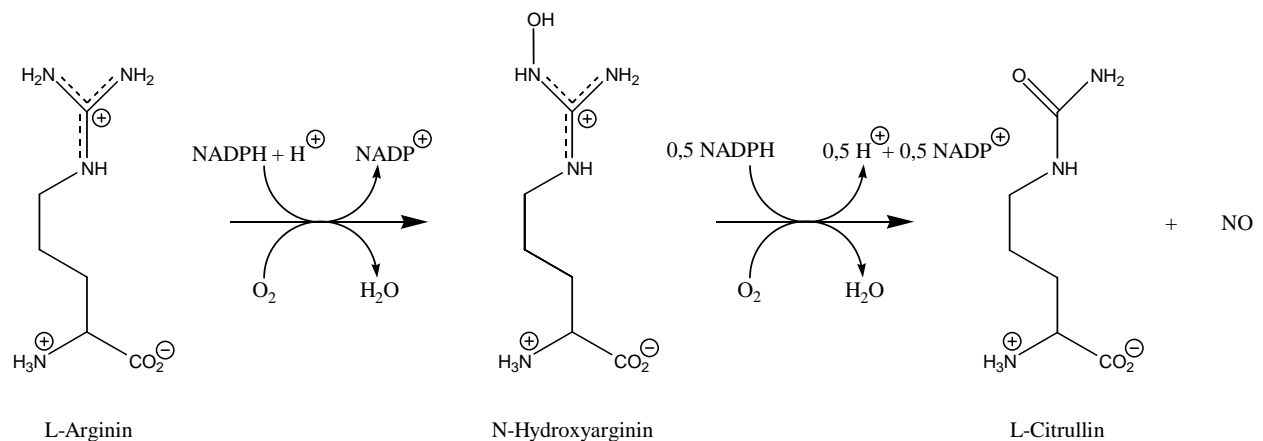


Abb. 2-3: Die NO Synthase Reaktion.[53]

zu bestimmten Zwecken eingesetzt werden können oder den Organismus als Ausgasungen verlassen. Eine weitere Möglichkeit für Pflanzen, NO zu synthetisieren, ist die Konvertierung der Aminosäure L-Arginin zu Citrullin und NO, die nach dem in Abbildung 2-3 dargestellten Mechanismus abläuft (vergleiche hierzu auch Abschnitt 2.1.3)[53]:

Katalysiert wird die Reaktion durch die NO Synthase. Das gebildete NO wird von Pflanzen für verschiedene Wachstums- und Differenzierungsprozesse genutzt.[54] Dabei ist vor allem die geringe Größe und die damit verbundene hohe Diffusionsgeschwindigkeit entscheidend, denn mit NO als Botenstoff ist eine schnelle Reaktionszeit sichergestellt. Durch seine kurze Halbwertszeit im Organismus der Pflanze wird NO im Allgemeinen nur dort gebildet, wo es eingesetzt wird. Nicht abreagiertes NO kann die Pflanze als Ausgasung verlassen, unter gewissen Umständen kann NO auch aus der Luft absorbiert werden.

Es sei hier nur am Rande erwähnt, dass NO in Tieren einige wichtige Funktionen übernimmt. Gerade die Wirkungsweise von NO in Säugetieren ähnelt den Mechanismen im menschlichen Organismus.[55, 56]

2.1.3 Physiologie

Die Funktionen von NO im menschlichen Organismus sind sehr vielfältig. Angeregt durch die Identifikation von NO als EDRF wurde die Forschung auf diesem Gebiet vorangetrieben und viele Erkenntnisse gewonnen. Die Giftigkeit von NO ist auf die Reaktion mit Aconitase²

²Die Aconitase ist ein Enzym, das eine wichtige Rolle im Citratzyklus spielt, der der Atmungskette voraus geht.

bzw. Cytochromoxidase³ zurückzuführen. Beide legen die Atmungskette lahm und es kann kein Sauerstoff aufgenommen werden bzw. Sauerstoff kann nicht mehr verbrannt werden. Der LC50/1h wird mit 115 ppm angegeben.[40]

Die Toxizität von NO macht sich der Organismus auch zunutze, indem er NO zur Bekämpfung von Bakterien freisetzt. Dabei wird NO von Makrophagen⁴ gebildet.

NO wird im Körper meistens dort gebildet, wo es gebraucht wird, da es durch sein gutes Diffusionsvermögen und seine hohe Reaktivität sehr schnell wegdiffundiert bzw. abreagiert. Die Halbwertszeit von NO wird in der Literatur mit wenigen Millisekunden bis zu einigen Sekunden angegeben.[57, 58] Der Mechanismus für die NO Produktion ist analog zur NO-Produktion in Pflanzen (siehe Abbildung 2-3). Der Precursor von NO ist L-Arginin. Arginin wird mit Hilfe der NO-Synthase (NOS) desaminiert. Die NO-Synthase kommt in drei Arten vor, die nNOS ist in Nervenzellen aktiv, die iNOS wirkt in Makrophagen und die eNOS ist für die NO-Produktion in den Endothelzellen⁵ verantwortlich. Der Körper hat aber auch die Möglichkeit, NO aus anderen Molekülen zu synthetisieren. Zum Beispiel wird NO aus Nitroglycerin gewonnen, das bei Angina Pectoris und Herzinsuffizienz verabreicht wird. Die Wirkung des Medikaments beruht auf der Gefäßerweiterung, die durch NO hervorgerufen wird.

Der Körper kann NO auch transportieren. Hierzu wird NO koordinativ an Hämoglobin gebunden (analog der Sauerstoffbindung) und ist damit in Bezug auf Diffusion und Reaktion gehemmt.[59] Die Entbindung des NO vom Hämoglobin läuft analog zur Desoxygenierung ab.

Die wichtigste Funktion wurde schon in der Einleitung angedeutet. NO wirkt entspannend auf glatte Gefäßmuskulatur und wird von den Endothelzellen gebildet. Das beteiligte Enzym, die eNOS, desaminiert L-Arginin und setzt NO frei. Über diesen Mechanismus wird der Blutdruck gesteuert. Wird zuviel NO ausgeschüttet, wie dies zum Beispiel bei einem septischen Schock der Fall ist, entspannen sich die Gefäßmuskeln zu stark und der Blutdruck sinkt rapide ab. Dies führt zu einer mangelnden Sauerstoffversorgung wichtiger Organe. Säuglinge,

³Cytochromoxidase ist ein Transmembranprotein, dass für die Umsetzung von Sauerstoff zu Wasser beteiligt ist.

⁴Makrophagen werden auch Fresszellen genannt und gehören zu den Leukozyten (weiße Blutkörperchen). Sie nehmen körperfremde Proteine von Viren und Bakterien in sich auf und bilden durch Zerkleinerung Antigene, die sie dann dem Immunsystem zu Verfügung stellen.

⁵Das Endothel ist die äußerste, dem Blut zugerichtete Zellschicht in Blutgefäßen. Dabei wirkt es als physikalische Barriere und nimmt an vielfältigen biochemischen Vorgängen wie der Blutgerinnung und der Fließfähigkeit teil.

die zuviel Nitrat oder Nitrit aufnehmen, können an einem NO Überschuss im Blut leiden, der durch das Hämoglobin gebunden ist. Diese Krankheit wird als *Blue-Baby-Syndrom* bezeichnet.

Im Gehirn wird NO als Neurotransmitter eingesetzt, sowohl zum Übertragen von Informationen als auch zum Aufbau von Nervenverbindungen. In der Nase hilft NO, verschiedene Gerüche unterscheiden zu können. Im Magen-Darm-Trakt, der Leber und der Niere hat NO verschiedene Funktionen. Die gefäßrelaxierende Wirkung von NO ist für die Erektion des Penis verantwortlich. Das Medikament Viagra beruht auf einer Freisetzung von NO in den Schwellkörpern, was zu einer höheren Durchblutung und damit zur Erektion führt.

Durch seine geringe Größe kann NO alle Zellen durchdringen, reagiert aber bei Stößen sehr schnell zu Nitrat oder Nitrit. Durch die Diffusion kann NO den Körper auch als Ausgasung verlassen. Dies kann entweder über die Haut oder über die Lunge erfolgen. Tatsächlich liegt der NO Gehalt vom Exhalat über der eingeatmeten NO-Konzentration, der Körper gibt also über Lunge und Atemwege NO an die Umwelt ab. Der NO-Ausstoß gesunder Erwachsener variiert zwischen 1 und 40 ppb. Bei Asthmakranken ist der NO-Ausstoß aufgrund der erhöhten Immunabwehr der Makrophagen ca. doppelt so hoch. Unterschiede der NO-Ausgasung in den Atemwegen führen zu einer atemabhängigen NO Konzentration im Exhalat. In der Nase, durch die normalerweise Umgebungsluft in die Lunge gesogen wird, ist zur präventiven Immunabwehr die Zahl der Makrophagen erhöht und damit auch ein erhöhter NO Ausstoß messbar, durch die Nase ausgeatmetes Exhalat beinhaltet also mehr NO als durch den Mund geatmetes. Die Schwankungen sind stark abhängig von Einflüssen wie dem allgemeinen Gesundheitszustand, der Atemtechnik und der Ernährung. Unter gewissen Umständen kann die NO-Konzentration im Exhalat auch geringer sein als in der Umgebungsluft, in diesem Fall wird NO in der Lunge und den Atemwegen gebunden.

Es gibt inzwischen Ansätze, NO als Medikament zu etablieren. Bei akutem Lungenversagen (ARDS) kann NO in niedrigen Konzentrationen der Atemluft beigemischt (0,1 – 40 ppm) werden, was zu einer besseren Sauerstoffaufnahme führt, allerdings ist der zugrundeliegende Mechanismus noch nicht vollständig geklärt. Eine weitere Therapiemöglichkeit ist eine NO-Verabreichung bei ventrikulären Problemen oder Herzinsuffizienz. Gerade bei Neugeborenen ist die Therapie mit NO besonders Erfolg versprechend und wird bei Lungenhochdruck oder Lungeninfekten angewendet. In diesem Zusammenhang kam es 2002 zu heftigen Diskussionen, da die Firma Linde Patente zur Herstellung von medizinisch verwendbarem NO aufkaufte und als Monopolist anschließend die Preise um den Faktor 50 erhöhte. Nach Klage von Konkurrenten ist der europäische Markt inzwischen wieder freigegeben.

2.2 Laserinduzierte Fluoreszenz

Bei der laserinduzierten Fluoreszenz wird das zu detektierende Teilchen mit Licht angeregt und die rotverschobene Fluoreszenz vermessen. Voraussetzung dieser Methode ist ein stabiler angeregter Zustand, der durch Lichtemission relaxiert. Die Lebensdauer des angeregten Zustands ist idealerweise im Pico- bis Mikrosekundenbereich angesiedelt, da eine längere Lebensdauer das Signal-zu-Rausch-Verhältnis verschlechtern würden.

LIF ist eine Abwandlung der Absorptionsspektroskopie und wird normalerweise im ultravioletten Spektralbereich durchgeführt, um das zu detektierende Teilchen elektronisch anzuregen. Es wird ein durchstimmbarer Laser verwendet, um das Molekül anzuregen. Der elektronisch angeregte Zustand ist instabil, so dass das Teilchen relaxiert, also die Energie wieder abgibt. Dies kann auf verschiedene Weise geschehen:

1. Intermolekulare Desaktivierung bei Stößen mit anderen Teilchen (Fluoreszenzlöschung)
2. Intramolekulare Desaktivierung bei interner Umwandlung
3. Spontane Emission eines Photons (Fluoreszenz bzw. Phosphoreszenz)
4. Induzierte Emission eines Photons durch Wechselwirkung mit einem Photon

Diese Möglichkeiten stehen in Konkurrenz mit der Aufnahme eines weiteren Photons, der Multiphotonen-Absorption. Die Absorption von mehreren Photonen ist abhängig von der Photonendichte, dem Absorptionsquerschnitt und der Lebensdauer des angeregten Zustands. Beim Ein-Photonen-LIF Experiment soll eine Multiphotonenabsorption möglichst vermieden werden, weswegen die Photonendichte nahe der Sättigungsgrenze gehalten wird. Um die strahlungslose Desaktivierung zu verkleinern, kann der Druck verkleinert und die mittlere freie Weglänge damit vergrößert werden. Damit wird allerdings auch die Anzahl der absorbierenden Teilchen verringert, was eine Verkleinerung des Signals nach sich zieht. Es gibt also einen optimalen Druckbereich, bei dem das Signal maximal ist. Auf die Fluoreszenzlöschung wird in Abschnitt 2.4 detailliert eingegangen. Die Fluoreszenz ist ein strahlender Übergang von einem elektronisch angeregten Zustand in einen niedrigeren Zustand, in der Regel ist dies der Grundzustand. Die Abklingdauer liegt normalerweise im Nanosekundenbereich. Die Phosphoreszenz hat eine wesentlich längere Abklingdauer, da ihr ein spinverbotener Übergang von einem Triplet- in einen Singulett-Zustand vorhergeht.

2.2.1 Übergänge

Die elektronische Konfiguration von NO kann folgendermaßen beschrieben werden (siehe Abbildung 2-1):

$$(1\sigma)^2(2\sigma^*)^2(3\sigma)^2(4\sigma^*)^2(5\sigma)^2(1\pi)^4(2\pi^*)^1.$$

Damit ist der elektronische Grundzustand ${}^2\Pi_{\Omega}$. NO hat also im Grundzustand einen Bahndrehimpuls $\Lambda = 1$ und einen Spin von $S = \frac{1}{2}$. Daraus ergibt sich eine Spin-Bahn-Aufspaltung der Energieniveaus, die $123,136 \text{ cm}^{-1}$ beträgt.[60] Die beiden Grundzustände entsprechen den möglichen Stellungen der Quantenzahlen Σ und Λ zueinander. Σ ist die Projektion des Spins \vec{S} und Λ ist die Projektion des Elektronenbahndrehimpulses \vec{L} auf die Molekülachse (siehe Abbildung 2-4). Die vollständigen Termnotationen des Grundzustands lauten also ${}^2\Pi_{\frac{1}{2}}$ und ${}^2\Pi_{\frac{3}{2}}$. Die Gesamtenergie des Molekülzustands wird durch die Quantenzahlen

n: elektronische Hauptquantenzahl

Λ : Projektion des Bahndrehimpulses \vec{L} auf die Molekülachse

Σ : Projektion des Spins \vec{S} auf die Molekülachse

v: Vibrationsquantenzahl

J: Rotationsquantenzahl

beschrieben und setzt sich folgendermaßen zusammen:

$$E = E_{el}(n, \Lambda, \Sigma) + E_{vib}(v, n, \Lambda, \Sigma) + E_{rot}(J, v, n, \Lambda, \Sigma). \quad (2.1)$$

Dabei gilt

$$E_{el} \gg E_{vib} \gg E_{rot}$$

Die Rotationsenergien von NO im vibronischen Grundzustand des elektronischen Grundzustands sind

$$E_{rot}(J, v) = B_v \cdot \left[\left(J + \frac{1}{2} \right)^2 - 1 \right] - D_v \cdot \left[\left(J + \frac{1}{2} \right)^4 - \left(J + \frac{1}{2} \right)^2 + 1 \right]. \quad (2.2)$$

Dabei ist B_v die Rotationskonstante, die mit $1,69607 \text{ cm}^{-1}$ angegeben wird und D_v ist die Zentrifugal-Dehnungskonstante, die mit $5,472 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^{-1}$ angegeben wird. Beide Konstanten sind experimentell bestimmte molekülspezifische Konstanten.[60]

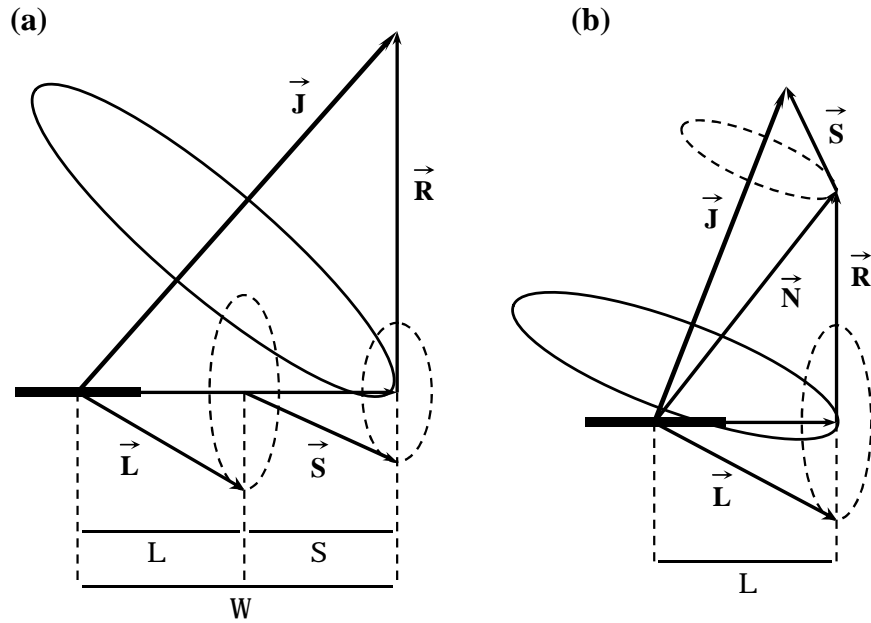


Abb. 2-4: Die Hundschen Kopplungsfälle (a) und (b) als Vektordiagramm.

Die Kopplung der einzelnen Drehimpulse untereinander wird durch die Hundschen Kopplungsfälle beschrieben. Hund unterteilte fünf idealisierte Fälle (a bis e), von denen die ersten beiden (a und b) auf das NO-Molekül in den relevanten Zuständen zutreffen. Diese beiden Kopplungsfälle sind in Abbildung 2-4 dargestellt.

Der Hundsche Kopplungsfall (a) beschreibt die Situation, bei der die Elektronenbewegung an die Kernverbindungsachse gekoppelt ist. Der Bahndrehimpuls \vec{L} des freien Elektrons präzediert um die Kernverbindungsachse und erzeugt so ein Magnetfeld, welches wiederum mit dem Elektronenspin \vec{S} wechselwirkt. \vec{S} präzediert ebenfalls um die Kernverbindungsachse. Der elektronische Gesamtdrehimpuls Ω setzt sich aus den Projektionen von \vec{L} und \vec{S} auf die Molekülachse zusammen, es gilt

$$\Omega = |\Lambda + \Sigma|. \quad (2.3)$$

Ω kann dabei die Werte

$$\Omega = \Lambda + \Sigma, \Lambda + \Sigma - 1, \dots, \Lambda - \Sigma \quad (2.4)$$

annehmen. Senkrecht zu Ω steht der Rotationsdrehimpuls \vec{R} , der die Rotation der Kerne um den gemeinsamen Schwerpunkt beschreibt. Eine Addition von Ω mit \vec{R} ergibt den

Gesamtdrehimpuls \vec{J} des Moleküls. Ω ist gleichzeitig die Projektion von \vec{J} auf die Kernverbindungsachse, weswegen \vec{J} nur die Werte

$$\vec{J} = \Omega, \Omega + 1, \Omega + 2, \dots \quad (2.5)$$

annehmen kann. Werte von \vec{J} , die kleiner als Ω sind, können nicht auftreten. Dieser Hund-sche Kopplungsfall (a) stellt einen Idealfall dar, der beim NO nur teilweise zutrifft. Es muss noch die Wechselwirkung der Magnetfelder der Molekülrotation \vec{R} mit dem Bahndrehimpuls \vec{L} berücksichtigt werden. Normalerweise sind für den Fall $\Lambda > 0$ alle Terme zweifach entartet. Bei größeren Rotationsgeschwindigkeiten wird diese Entartung allerdings aufgehoben, weil \vec{R} mit \vec{J} wechselwirkt. Diese Aufspaltung wird als *Λ -type doubling* bezeichnet und verstärkt sich mit ansteigender Rotationsgeschwindigkeit. Die aufgespaltenen Energieniveaus haben denselben \vec{J} -Wert und werden durch ihre Paritäten unterschieden. Die Aufspaltung des *Λ -type doubling* ist gering im Vergleich zu den den Abständen der Rotationsenergieniveaus.

Beim Hund-schen Kopplungsfall (b) ist der Spin \vec{S} vollkommen von der Molekülachse entkoppelt. Ω ist in diesem Fall nicht definiert, Λ koppelt direkt mit dem Rotationsvektor \vec{R} . Die Addition von \vec{R} und Λ liefert den Drehimpulsvektor \vec{N} ⁶, der nur die Werte

$$\vec{N} = \Lambda, \Lambda + 1, \Lambda + 2, \dots \quad (2.6)$$

annehmen kann. \vec{N} tritt nun in Wechselwirkung mit dem Spin \vec{S} , woraus sich der Gesamtdrehimpuls \vec{J} ergibt. Durch die Vektoraddition von \vec{N} und \vec{S} ergeben sich die möglichen Werte von \vec{J} zu

$$\vec{J} = (\vec{N} + \vec{S}), (\vec{N} + \vec{S} - 1), (\vec{N} + \vec{S} - 2), \dots, |\vec{N} - \vec{S}|. \quad (2.7)$$

Solange \vec{N} größer als \vec{S} ist, besteht jeder Wert von \vec{N} aus $2\vec{S}+1$ Komponenten, entsprechend der Multiplizität. Bei NO wird für hohe Rotationsgeschwindigkeiten die Spin-Bahn-Kopplung geschwächt und damit der Spin von der Molekülachse entkoppelt, somit kann für NO bei hohen Rotationsgeschwindigkeiten der Hund-sche Kopplungsfall (b) als gültig angesehen werden. Das bedeutet, dass jedes \vec{N} aus zwei Rotationsniveaus besteht, die mit F1 und F2 gekennzeichnet werden. Es gilt:

⁶In früheren Publikationen wird der Rotationsdrehimpuls häufig als \vec{N} und der Drehimpulsvektor dann als \vec{K} bezeichnet.

$$F_1(\vec{N}) : \vec{J} = \vec{N} + \frac{1}{2} \quad (2.8)$$

und

$$F_2(\vec{N}) : \vec{J} = \vec{N} - \frac{1}{2}. \quad (2.9)$$

Mit steigenden Werten von \vec{N} wird die Aufspaltung zwischen F1 und F2 größer, ist im Vergleich zu den Abständen der Rotationsniveaus aber eher klein. Die Rotationsniveaus berechnen sich zu:

$$F_1(\vec{N}) = B_v \cdot \vec{N} \cdot (\vec{N} + 1) + \frac{1}{2} \cdot \gamma \cdot \vec{N} \quad (2.10)$$

$$F_2(\vec{N}) = B_v \cdot \vec{N} \cdot (\vec{N} + 1) - \frac{1}{2} \cdot \gamma \cdot \vec{N}. \quad (2.11)$$

Die Kopplungskonstante γ ist viel kleiner als die Rotationskonstante B_v , was die Verhältnisse der Aufspaltungen erklärt. CROSLY *et al.* geben γ mit $|\gamma| = 1,3 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ an.[61] Die Aufspaltung von \vec{N} in mehrere \vec{J} kann als ρ -type doubling bezeichnet werden.

Für die elektronische Anregung von NO kann jeder erlaubte Übergang benutzt werden. Der Ausgangszustand ist gegeben durch die Population der elektronischen, Vibrations- und Rotationszustände bei Raumtemperatur, welche durch die Boltzmann-Verteilung gegeben ist. Bei Raumtemperatur befinden sich etwa 65 % aller NO-Moleküle im elektronischen Grundzustand $^2\Pi_{\frac{1}{2}}$ und 35 % im $^2\Pi_{\frac{3}{2}}$ -Zustand. 99,998 % aller NO Moleküle befinden sich im Schwingungsgrundzustand $v''=0$. Die Populationen der Rotationszustände sind Tabelle 2-2 zu entnehmen. Der Ausgangszustand für die Lichtabsorption muss also der X($v''=0$) Zustand sein. In Abbildung 2-5 ist ein experimentell gemessenes UV-Absorptionsspektrum von NO dargestellt. Zur besseren Übersicht sind in Abbildung 2-6 die für LIF relevanten Übergänge noch einmal dargestellt, dabei handelt es sich um ein mit *LIFBASE* simuliertes Spektrum, bei dem nur die Banden γ (A-X), β (B-X), δ (C-X) und ϵ (D-X) berücksichtigt wurden. Nur der Vollständigkeit halber ist auch ein experimentell bestimmtes VUV-Spektrum von NO in Abbildung 2-7 dargestellt.

Um im Experiment mit einem schmalbandigen, stabilen und durchstimmbaren Laserstrahl arbeiten zu können, wurde der $\gamma(0,0)$ Übergang ausgewählt, obwohl dieser einen relativ geringen Franck-Condon-Faktor aufweist. Im Folgenden wird deshalb nur die Quantenchemie bezüglich dieses Übergangs beschrieben.

Tab. 2-2: Die Populationen der Rotationszustände von NO bei 298 K.

J	$^2\Pi_{\frac{1}{2}}$	$^2\Pi_{\frac{3}{2}}$	J	$^2\Pi_{\frac{1}{2}}$	$^2\Pi_{\frac{3}{2}}$
0,5	0,0080	-	14,5	0,0258	0,0138
1,5	0,0203	0,0114	15,5	0,0215	0,0114
2,5	0,0292	0,0164	16,5	0,0175	0,0093
3,5	0,0368	0,0206	17,5	0,0140	0,0074
4,5	0,0428	0,0240	18,5	0,0110	0,0057
5,5	0,0470	0,0263	19,5	0,0085	0,0044
6,5	0,0494	0,0275	20,5	0,0064	0,0033
7,5	0,0501	0,0278	21,5	0,0048	0,0024
8,5	0,0491	0,0272	22,5	0,0035	0,0017
9,5	0,0469	0,0258	23,5	0,0025	0,0012
10,5	0,0436	0,0239	24,5	0,0017	0,0009
11,5	0,0395	0,0216	25,5	0,0012	0,0006
12,5	0,0351	0,0190	26,5	0,0008	0,0004
13,5	0,0304	0,0164	Summe	0,6474	0,3504

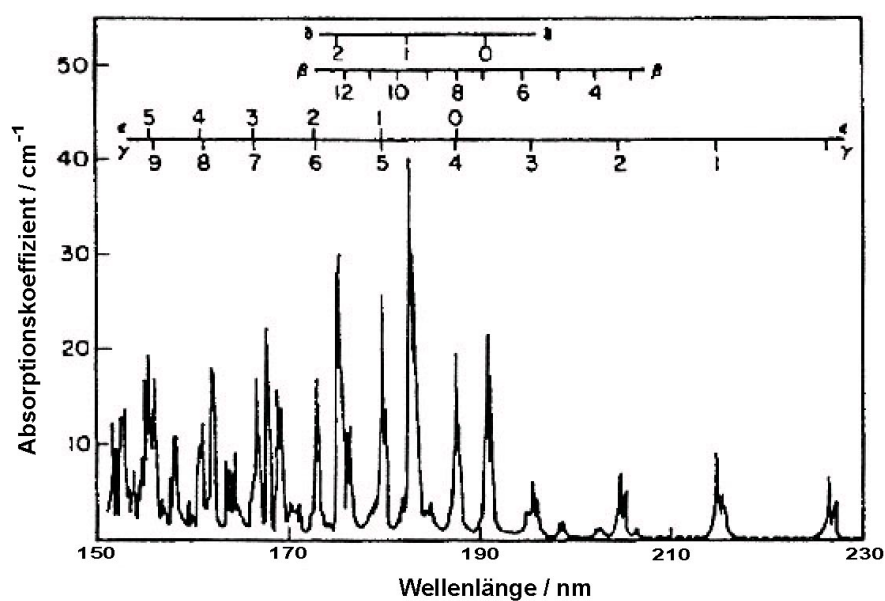


Abb. 2-5: Experimentell bestimmtes Absorptionsspektrum von NO im ultravioletten Spektralbereich.[41]

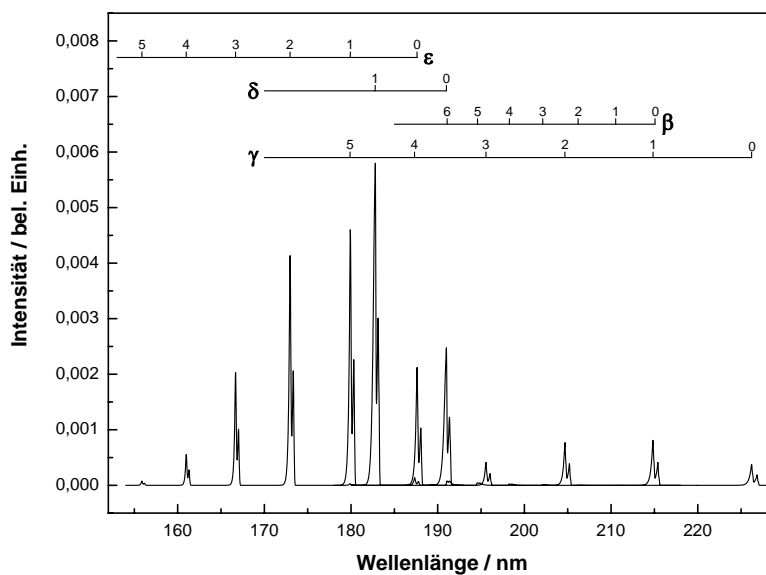


Abb. 2-6: Ein mit LIFBASE simuliertes Absorptionsspektrum von NO im ultravioletten Spektralbereich. Es wurden nicht alle möglichen Übergänge berücksichtigt.[62]

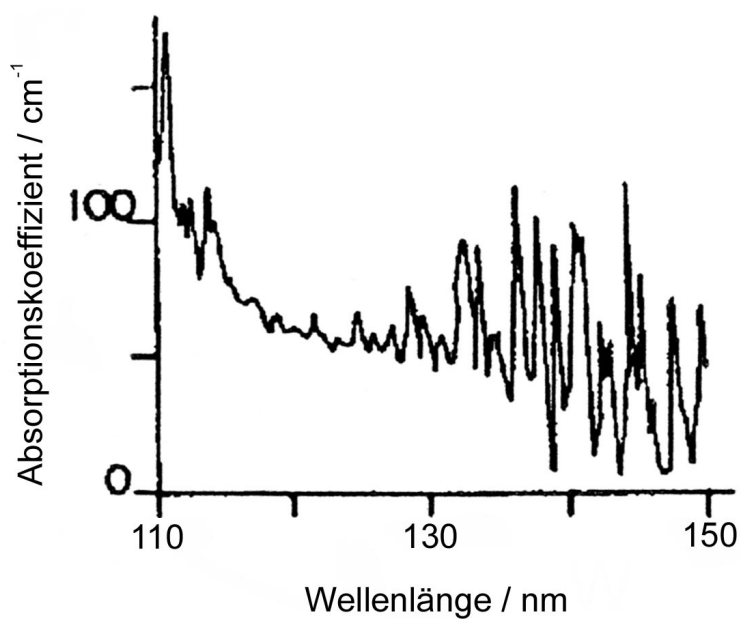


Abb. 2-7: Experimentell bestimmtes Absorptionsspektrum von NO im VUV-Bereich.[41]

Der erste angeregte Zustand des NO-Moleküls kann durch das Termsymbol ${}^2\Sigma^+$ beschrieben werden. Durch den fehlenden Bahndrehimpuls ($\Lambda = 0$) ist \vec{S} automatisch von der Molekülachse entkoppelt, damit sind \vec{N} und \vec{R} identisch. Die Kopplung mit \vec{S} ergibt \vec{J} . Da \vec{N} rechtwinklig zur Molekülachse steht, kann es nun alle ganzzahligen Werte $\vec{N} \geq 0$ annehmen. Bei dem $A^2\Sigma^+$ -Zustand handelt es sich um einen Rydberg-Zustand, das angeregte Elektron wurde also nicht in das freie antibindende $3\sigma^*$ -Molekülorbital promoviert, sondern in das energieärmere $3s\sigma$ -Rydberg-Molekülorbital.[63, 64]

Vollständig wird der Übergang folgendermaßen beschrieben:

$$A^2\Sigma^+(v' = 0, J') \leftarrow X^2\Pi_\Omega(v'' = 0, J'').$$

Der Energieunterschied der beiden Zustände wird zwischen $44140,809 \text{ cm}^{-1}$ [60] und $44200,16 \text{ cm}^{-1}$ [63] beziffert. Für den Übergang gelten folgende Auswahlregeln:

$$\begin{aligned} \Delta\Lambda &= 0, \pm 1 & \text{(I)} \\ \Delta S &= 0 & \text{(II)} \\ \Delta J &= 0, \pm 1^7 & \text{(III)} \\ + &\leftrightarrow - & \text{(IV)}. \end{aligned}$$

Genau genommen gelten diese Auswahlregeln nur für den Übergang vom Hundschen Fall (a) zum Hundschen Fall (b), also bei NO nur für kleine Rotationsgeschwindigkeiten. Die ersten beiden Auswahlregeln sind beim betrachteten $\gamma(0,0)$ -Übergang erfüllt, denn der Unterschied der Bahndrehimpuls-Quantenzahlen beträgt -1 und die Multiplizität bleibt gleich, es müssen also nur die Auswahlregeln der Rotationsniveaus und der Paritäten berücksichtigt werden. Die Anwendung dieser Regeln führt zu zwölf erlaubten Zweigen:

$$P_{11}, P_{12}, P_{21}, P_{22}, Q_{11}, Q_{12}, Q_{21}, Q_{22}, R_{11}, R_{12}, R_{21}, R_{22}.$$

Abbildung 2-8 illustriert diese Übergänge. P bedeutet $\Delta J = -1$, Q steht für $\Delta J = 0$ und R für $\Delta J = +1$. Die Indices sind die Gleichen wie bei der F-Indizierung, dabei steht die erste Ziffer für den angeregten Zustand, die zweite Ziffer für den Grundzustand. Durch die unterschiedlichen Kopplungen ist die Aufspaltung der Spin-Bahn-Kopplung im Grundzustand relativ groß gegenüber der Spin-Rotations-Kopplung, wodurch das Spektrum in zwei Subbanden aufgeteilt ist. Die erste Subbande, die im Spektrum bei höheren Wellenzahlen auftaucht, resultiert aus der Anregung aus dem ${}^2\Pi_{\frac{1}{2}}$ Zustand und beinhaltet die Zweige

⁷Der Übergang $J'=0 \leftarrow J''=0$ stellt einen Sonderfall dar, der, obwohl er der Auswahlregel genügt, trotzdem verboten ist. Beim NO ist dies unerheblich, da die Zustände $J'=0$ und $J''=0$ nicht existieren.

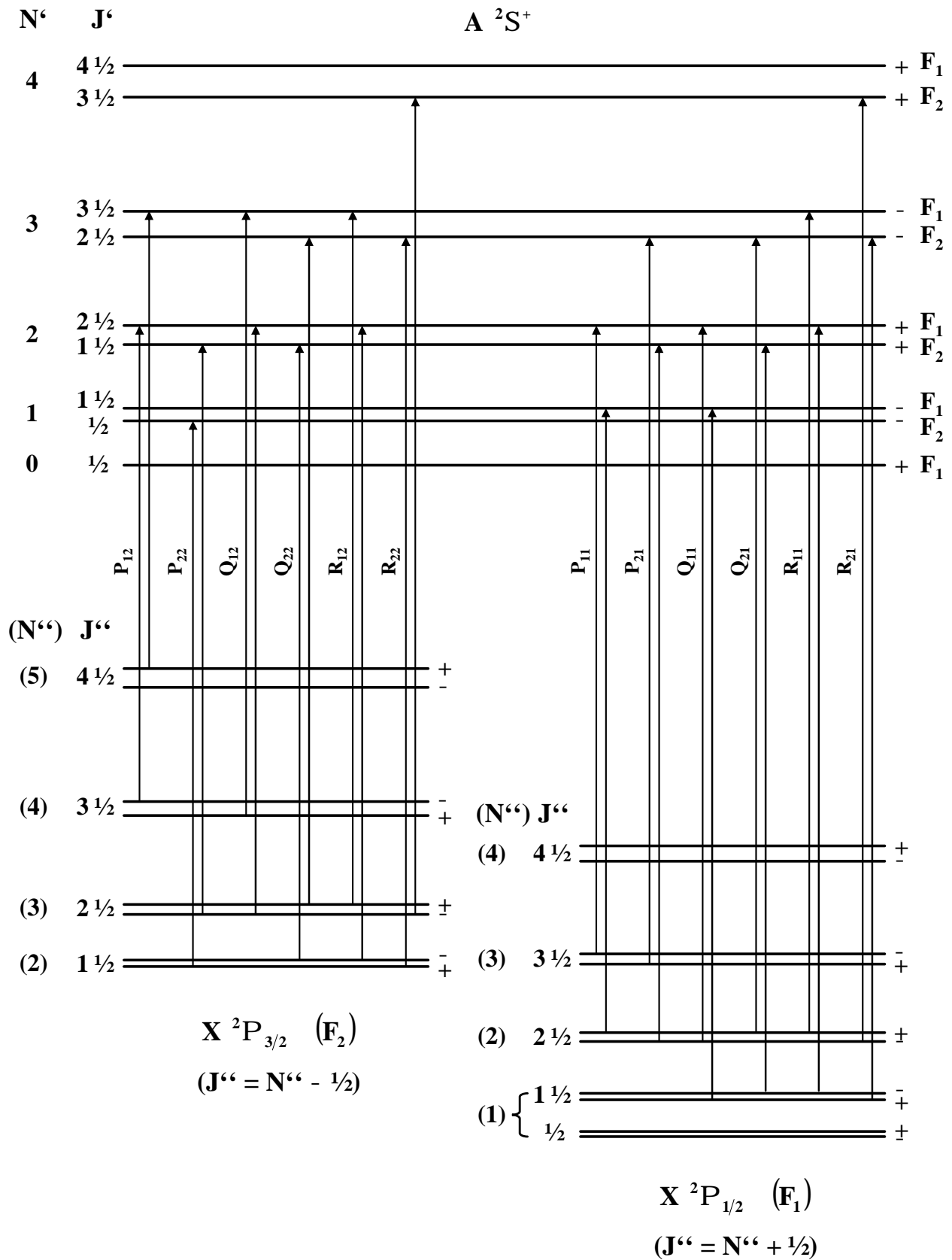


Abb. 2-8: Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabsgetreu dargestellt und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (a). [65]

$$P_{11}, P_{21}, Q_{11}, Q_{21}, R_{11}, R_{21}.$$

Die zweite Subbande erscheint bei niedrigeren Wellenzahlen und resultiert aus der Anregung aus dem ${}^2\Pi_{\frac{3}{2}}$ Zustand. Sie enthält folgende Zweige:

$$P_{12}, P_{22}, Q_{12}, Q_{22}, R_{12}, R_{22}.$$

Bei Zimmertemperatur reicht die zweite Subbande in die erste hinein. Bei sehr tiefen Temperaturen lassen sich die Subbanden aufgrund der geringeren Rotationsgeschwindigkeiten vollständig auflösen.

Die bisherigen Ausführungen bezogen sich nur auf den Grundzustand, der durch den Hund-schen Fall (a) beschrieben wird. Für diesen Fall wären alle zwölf Zweige gleich intensiv. Wenn bei steigenden Rotationsgeschwindigkeiten der Spin von der Molekülachse entkoppelt wird, wird der Hunsche Fall (b) gültig. Dies führt zu einer weiteren Auswahlregel:

$$\Delta N = 0, \pm 1 \quad (\text{V}).$$

Für die vollständige Nomenklatur der Zweige muss nun ΔN berücksichtigt werden, dies geschieht durch einen weiteren, hochgestellten Index:

$${}^{\Delta N} \Delta J_{ij}.$$

Die Anwendung der Auswahlregel (V) auf die 12 erlaubten Zweige (Hundscher Fall (a)) ist in Tabelle 2-3 dargestellt. Die Übergänge ${}^O P_{12}$ und ${}^S R_{21}$ sind für den Hund-schen Fall (b) verboten und tauchen daher nur bei kleinen J auf. Die Zweige, die mit $\Delta N \neq \Delta J$ gekennzeichnet sind, sind nach den Auswahlregeln erlaubt, jedoch ist diese Konstellation aufgrund der Wechselwirkung von \vec{J} und \vec{N} ungünstig, so dass diese Zweige nur sehr schwach auftauchen. Sie werden Nebenzweige genannt. Die sechs restlichen Zweige

$${}^P P_{11}, {}^P P_{22}, {}^Q Q_{11}, {}^Q Q_{22}, {}^R R_{11}, {}^R R_{22}$$

sind die Hauptzweige und am intensivsten. Die Nebenzweige sind in der Regel recht nah an den Hauptzweigen angesiedelt, was an der geringen Aufspaltung durch die \vec{S} - \vec{N} -Wechselwirkung liegt. Durch die Nähe zu den Hauptzweigen werden sie auch als Satellitenzweige bezeichnet. Die möglichen Übergänge aus dem Hund-schen Fall (b) sind in Abbildung 2-9 dargestellt.

Die durch das Λ -type-doubling verursachte Aufspaltung der Zustände sollte sich im Spektrum eigentlich in einer Verdoppelung der Linien abzeichnen, jedoch steht dies im Gegensatz zur Auswahlregel (4), die einen Paritätenwechsel vorschreibt. So bleibt die Anzahl der Linien trotz Λ -type-doubling konstant, aber die relative Lage der Q-Zweige verschiebt sich im Vergleich zu den R- und P-Zweigen, da die Q-Zweige jeweils die niedrigere Λ Komponente

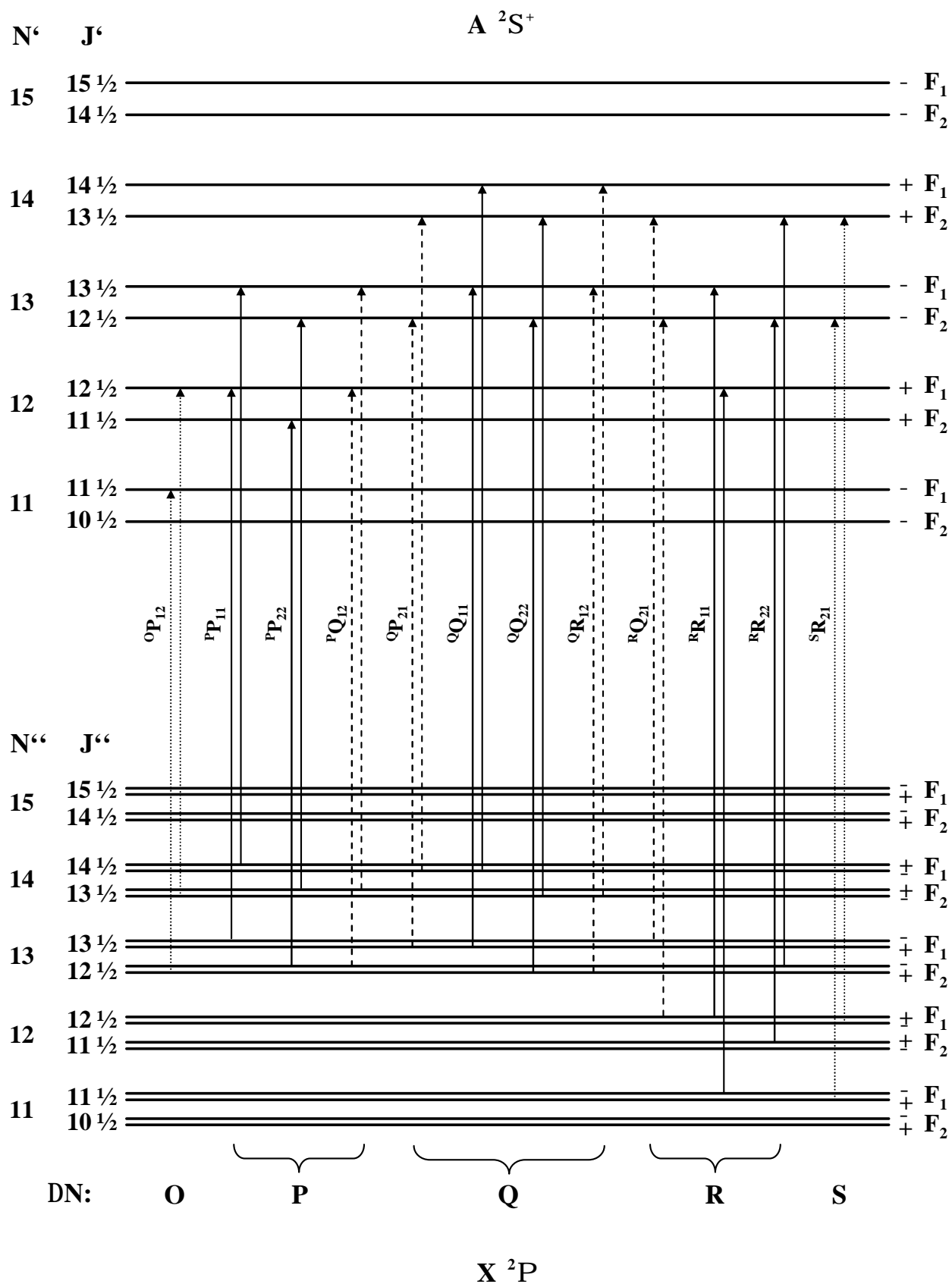


Abb. 2-9: Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabsgetreu dargestellt und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (b). [65]

Tab. 2-3: Die Nomenklatur der möglichen Übergänge.

ΔN	ΔJ	Übergang	Hundscher Fall (a)	Hundscher Fall (b)	Kommentar
-2	-1	$F_1 \leftarrow F_2$	P_{12}	$^O P_{12}$	verboten
-1	-1	$F_1 \leftarrow F_1$	P_{11}	$^P P_{11}$	
-1	-1	$F_2 \leftarrow F_2$	P_{22}	$^P P_{22}$	
-1	0	$F_1 \leftarrow F_2$	Q_{12}	$^P Q_{12}$	$\Delta N \neq \Delta J$
0	-1	$F_2 \leftarrow F_1$	P_{22}	$^Q P_{21}$	$\Delta N \neq \Delta J$
0	0	$F_1 \leftarrow F_1$	Q_{11}	$^Q Q_{11}$	
0	0	$F_2 \leftarrow F_2$	Q_{22}	$^Q Q_{22}$	
0	+1	$F_1 \leftarrow F_2$	R_{12}	$^Q R_{12}$	$\Delta N \neq \Delta J$
+1	0	$F_2 \leftarrow F_1$	Q_{21}	$^R Q_{21}$	$\Delta N \neq \Delta J$
+1	+1	$F_1 \leftarrow F_1$	R_{11}	$^R R_{11}$	
+1	+1	$F_2 \leftarrow F_2$	R_{22}	$^R R_{22}$	
+2	+1	$F_2 \leftarrow F_1$	R_{21}	$^S R_{21}$	verboten

als unteren Zustand haben, während die P- und R-Zweige jeweils die obere Λ Komponente als unteren Zustand haben. Dieser Effekt wird als *combination defect* bezeichnet. Für die Aufspaltung der Zustände gilt:

$$\Delta_1 F'(J) = Q \cdot (J+1) - P \cdot (J+1) + \epsilon \quad (2.12)$$

$$\Delta_1 F''(J) = Q \cdot (J) - P \cdot (J+1) + \epsilon. \quad (2.13)$$

Die Konstante ϵ steht für den numerischen Wert des *combination defect* und entspricht bei $J=2$ der Summe der Λ Aufspaltung von den Termen J und $J+1$. Die Aufspaltung durch den *combination defect* ist allerdings sehr klein, dasselbe gilt für die Aufspaltung durch die \vec{S} - \vec{N} -Wechselwirkung. Dies hat zur Folge, dass die Satellitenzweige nicht als eigene Zweige im Spektrum erscheinen, sondern mit den Hauptzweigen zusammenfallen. Dieser Umstand wird in Abbildung 2-10 dargestellt. Es bleiben also im Spektrum noch acht sichtbare Zweige, die sechs Hauptzweige, und die beiden Zweige, die nur im Hundschen Fall (a) erlaubt sind und daher mit steigendem J sehr schnell an Intensität verlieren.

Die beobachtbaren Zweige sind

$$P_{11}, P_{12}, P_{22}(Q_{12}), Q_{11}(P_{21}), Q_{22}(R_{12}), R_{11}(Q_{21}), R_{21}, R_{22}.$$
⁸

⁸Im Folgenden werden nur die Übergänge bei kleinen J betrachtet, deswegen wird die Nomenklatur entsprechend dem Hundschen Fall (a) angepasst.

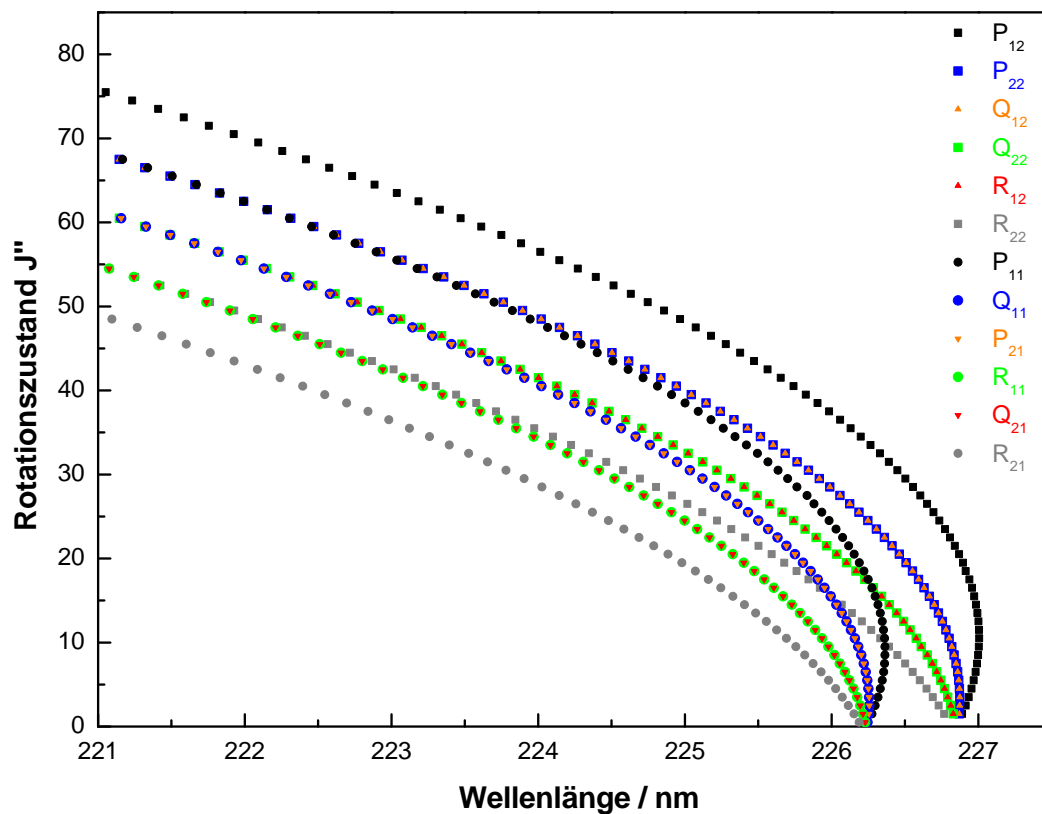


Abb. 2-10: Fortrat-Diagramm der NO $\gamma(0,0)$ -Bande.

Die Zweige in den Klammern sind die Satellitenzweige. Der theoretische Hintergrund ist nun ausreichend, um das mit Ein-Photonen-LIF gemessene NO Spektrum ausreichend zu charakterisieren. Mit Hilfe des Computerprogramms *LIFBASE* wurde ein Spektrum simuliert, das in den Abbildungen 2-11, 2-12 und 2-13 gezeigt wird.

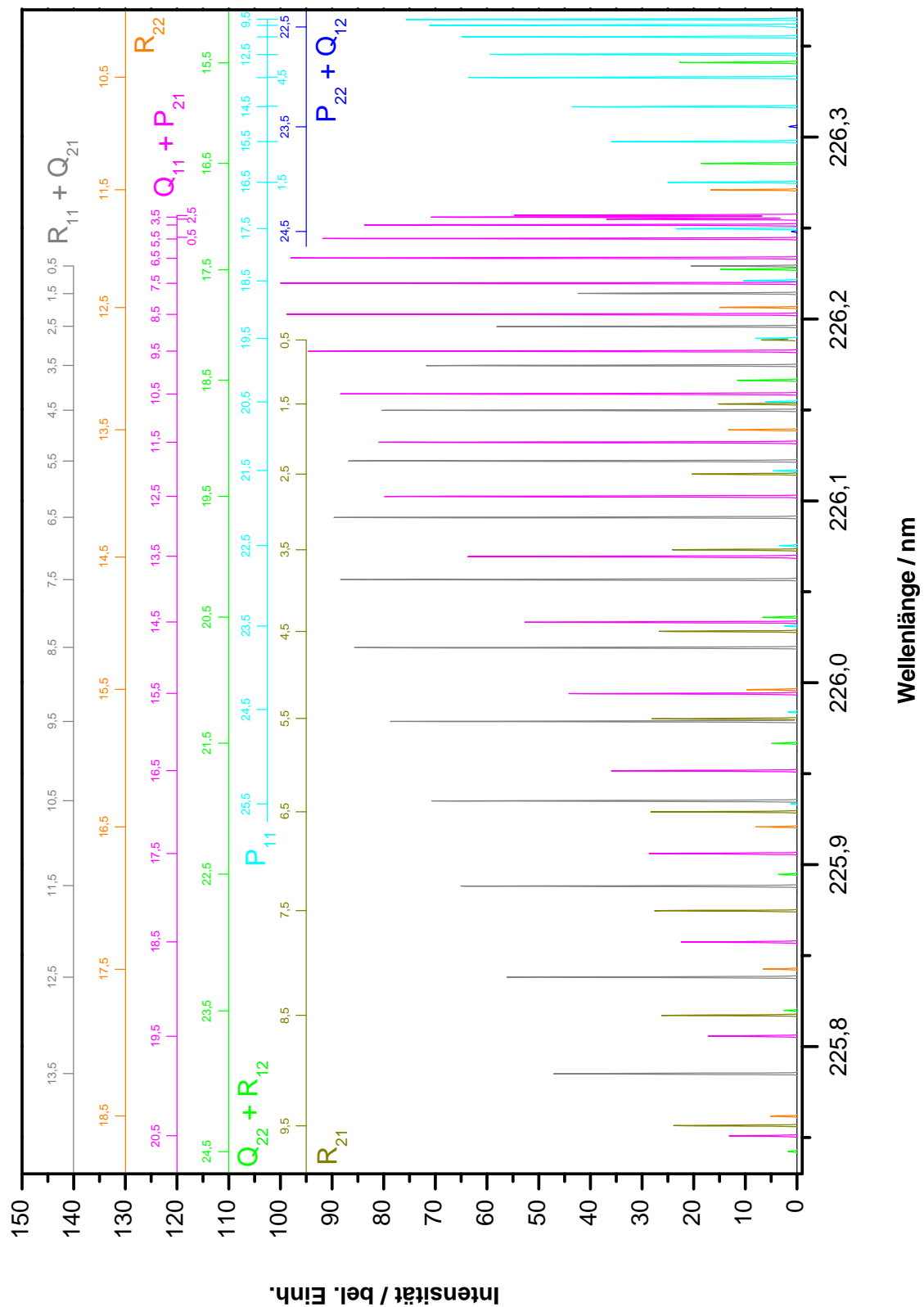


Abb. 2-12: Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 225,73 nm bis 226,37 nm. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen. Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 3 GHz.[62]

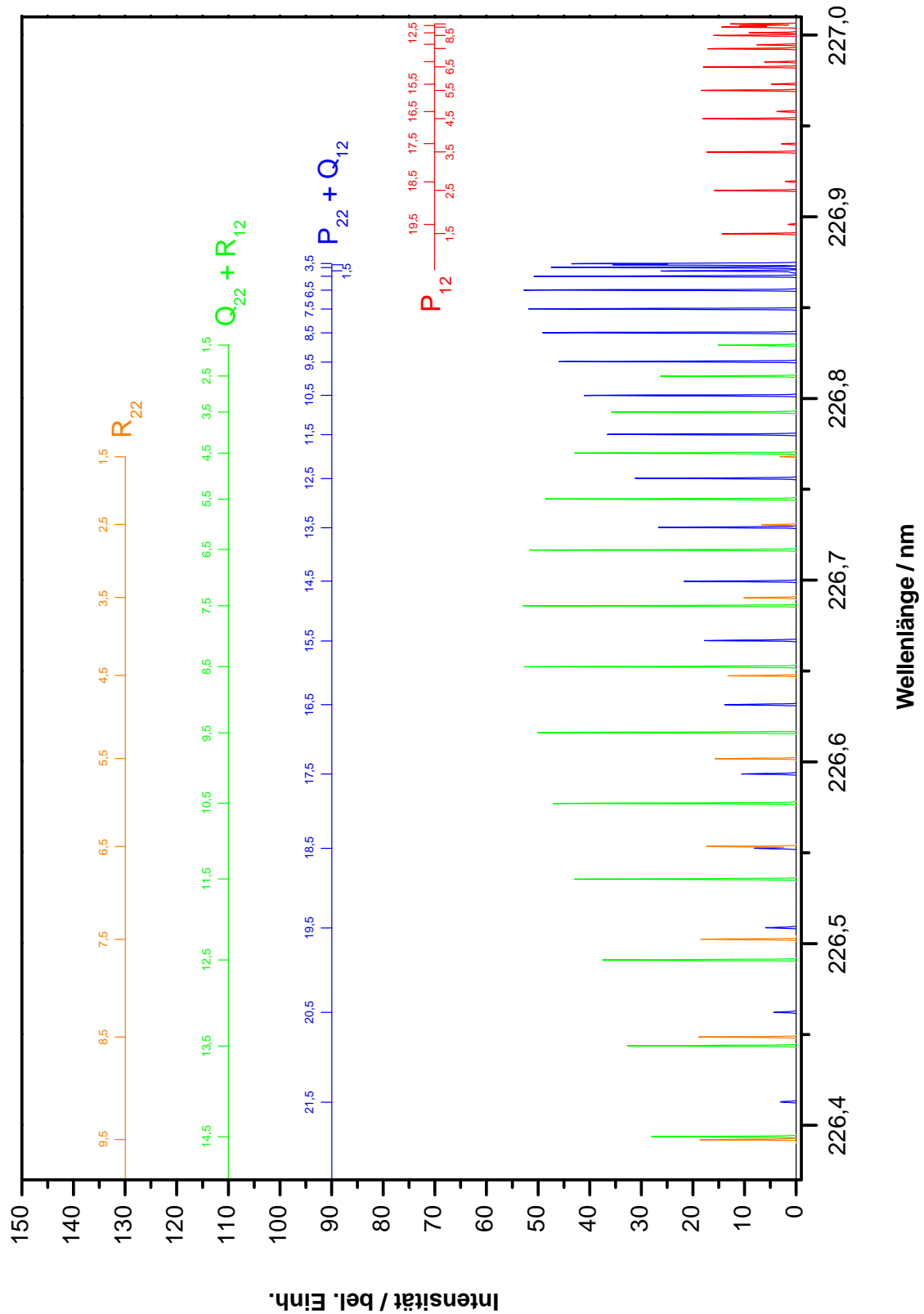


Abb. 2-13: Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 226,37 nm bis 227,01 nm. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen. Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 3 GHz.[62]

2.2.2 Isotopenselektiver Nachweis mit LIF

Die bisherigen Ausführungen gelten selbstverständlich für alle Isotopomere von NO, lediglich die angegebenen Konstanten sind spezifisch für ^{14}NO . Nun soll in dieser Arbeit ein isotopenselektiver Nachweis erfolgen. Dazu muss zuerst erläutert werden, warum dies möglich ist.

Andere Isotopomere als das ^{14}NO haben eine andere Gewichtsverteilung. Diese wirkt sich nicht auf den elektronischen Anteil der Anregung aus, wohl aber auf den vibronischen und rotatorischen. Die Vibrationen des NO-Moleküls können näherungsweise durch einen harmonischen Oszillator beschrieben werden. Die Schwingungsfrequenz ν_{osc} kann nach

$$\nu_{osc} = \frac{1}{2 \cdot \pi} \cdot \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (2.14)$$

berechnet werden. Die Kraftkonstante k ist die Proportionalitätskonstante zwischen der Kraft (gegeben über die Coulomb-Wechselwirkung) und der Auslenkung aus der Gleichgewichtslage. Damit ist k unabhängig von der Masse der Atomkerne. Die reduzierte Masse μ dagegen ist definiert als

$$\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2} \quad (2.15)$$

und deswegen für die Isotopomere unterschiedlich. Das Verhältnis der Schwingungsfrequenzen verschiedener Isotopomere ist durch

$$\frac{\nu_{osc}^i}{\nu_{osc}} = \sqrt{\frac{\mu}{\mu^i}} = \rho \quad (2.16)$$

gegeben. Dabei steht der Index i für das schwerere Isotopomer, in diesem Fall also ^{15}NO . ^{15}NO hat also die kleinere Schwingungsfrequenz. Einsetzen der Massen von ^{14}NO und ^{15}NO ergibt ein Verhältnis der Schwingungsfrequenzen $\rho=0,982$. Die Schwingungsniveaus ergeben sich dann nach

$$G(v) = \frac{E(v)}{h \cdot c} = \frac{\nu_{osc}}{c} \cdot \left(v + \frac{1}{2}\right) \quad (2.17)$$

und

$$G^i(v) = \frac{E^i(v)}{h \cdot c} = \frac{\nu_{osc}^i}{c} \cdot (v + \frac{1}{2}) = \rho \frac{\nu_{osc}}{c} \cdot (v + \frac{1}{2}). \quad (2.18)$$

Der Ausdruck ν_{osc} wird auch als Schwingungskonstante $\tilde{\nu}_e$ bezeichnet, c bedeutet dabei die Lichtgeschwindigkeit, h die Planck-Konstante. Für eine exaktere Beschreibung muss die Anharmonizität der Oszillation mit berücksichtigt werden. Dies führt in sehr guter Näherung zu den Ausdrücken

$$G(v) = \tilde{\nu}_e \cdot (v + \frac{1}{2}) - \tilde{\nu}_e \cdot x_e \cdot (v + \frac{1}{2})^2 + \tilde{\nu}_e \cdot y_e \cdot (v + \frac{1}{2})^3 + \dots \quad (2.19)$$

und

$$G^i(v) = \rho \cdot \tilde{\nu}_e \cdot (v + \frac{1}{2}) - \rho^2 \cdot \tilde{\nu}_e \cdot x_e \cdot (v + \frac{1}{2})^2 + \rho^3 \cdot \tilde{\nu}_e \cdot y_e \cdot (v + \frac{1}{2})^3 + \dots \quad (2.20)$$

Dabei ist x die Anharmonizitätskonstante, die über

$$x_e = \frac{h \cdot \nu_{osc}}{4 \cdot D_e} \quad (2.21)$$

abgeschätzt werden kann. D_e ist die Dissoziationsenergie. Da x_e von der Schwingungsfrequenz abhängt und damit auch von der reduzierten Masse, unterscheidet sich x_e für die Isotopomere. Die in Gleichung 2.19 und 2.20 vorkommenden Summanden mit steigenden Potenzen haben nur geringen Einfluss und können daher vernachlässigt werden. Damit vereinfachen sich die Gleichungen zu

$$G(v) = \tilde{\nu}_e \cdot (v + \frac{1}{2}) - \tilde{\nu}_e \cdot x_e \cdot (v + \frac{1}{2})^2 \quad (2.22)$$

und

$$G^i(v) = \rho \cdot \tilde{\nu}_e \cdot (v + \frac{1}{2}) - \rho^2 \cdot \tilde{\nu}_e \cdot x_e \cdot (v + \frac{1}{2})^2. \quad (2.23)$$

Mit Hilfe von Gleichungen 2.22 und 2.23 kann nun der Vibrationsisotopenshift $\Delta G(v)$ für den Fall $A(v' = 0) \leftarrow X(v'' = 0)$ berechnet werden. Dazu müssen die einzelnen Energieniveaus der Moleküle berechnet und subtrahiert werden:

$$\Delta G(v) = [G(v') - G(v'')] - [G^i(v') - G^i(v'')]. \quad (2.24)$$

Tab. 2-4: Spektroskopische Konstanten von NO.[60, 62, 66, 67]

Isotopomer	¹⁴ NO	¹⁴ NO	¹⁵ NO	¹⁵ NO
Konstante / cm^{-1}	$A^2\Sigma^+$	$X^2\Pi$	$A^2\Sigma^+$	$X^2\Pi$
Anharmon.-Konst. x_e	16,159	14,088	15,347	13,586
Bandenursprung	44139,128	0	44134,864	0
Λ -type doubling p_0	-	$1,170 \cdot 10^{-2}$	-	$1,127 \cdot 10^{-2}$
Λ -type doubling q_0	-	$1,028 \cdot 10^{-4}$	-	$8,917 \cdot 10^{-5}$
Rotationskonstante B_0	1,98622	1,69607	1,91603	1,63616
Schwingungskonst. $\tilde{\nu}_e$	2374,372	1904,135	2331,558	1870,078
Spin-Bahn-Koppl. A_0	-	123,14	-	123,14
Spin-Rot.-Koppl. γ_0	$-2,680 \cdot 10^{-3}$	$-1,489 \cdot 10^{-5}$	$-2,585 \cdot 10^{-3}$	$-1,572 \cdot 10^{-5}$
Zentrifug.-Dehn. D_0	$5,656 \cdot 10^{-6}$	$5,472 \cdot 10^{-6}$	$5,172 \cdot 10^{-6}$	$5,092 \cdot 10^{-6}$
Zentrifug.-Dehn. A_D	-	$1,792 \cdot 10^{-4}$	-	$1,698 \cdot 10^{-4}$

Die erforderlichen Daten können Tabelle 2-4 entnommen werden. Die Vibrationsisotopenshift $\Delta G(v)$ beträgt $4,301 \text{ cm}^{-1}$. Der experimentell ermittelte Wert wird mit $4,264 \text{ cm}^{-1}$ [60, 66] angegeben und liegt so nur 0,9 % unter dem theoretischen. Der Unterschied kann durch den Wegfall der höheren Korrekturterme erklärt werden. Insgesamt steigt der Abstand der korrespondierenden Vibrationsniveaus mit steigendem v , wobei die Niveaus des leichteren Isotopomers höher liegen als die des schwereren.

Nun muss noch der Einfluss des Molekülgewichts auf die Rotationsniveaus betrachtet werden. Die Termwerte der Rotationsniveaus sind definiert nach

$$F(J) = \frac{E(J)}{h \cdot c} = B_v \cdot J \cdot (J + 1). \quad (2.25)$$

Dabei ist h wieder die Planck-Konstante, c die Lichtgeschwindigkeit und B_v die Rotationskonstante, die dem Trägheitsmoment des Moleküls umgekehrt proportional ist und damit von der Masse abhängt:

$$B_v = \frac{h}{8 \cdot \pi^2 \cdot c \cdot \Theta} = \frac{h}{8 \cdot \pi^2 \cdot c \cdot \mu^2 \cdot r^2}. \quad (2.26)$$

Der Radius r steht für den Gleichgewichtsabstand in Ruhe. Analog zu Gleichung 2.16 kann das Verhältnis der Rotationsfrequenzen berechnet werden:

$$\frac{\nu_{rot}^i}{\nu_{rot}} = \sqrt{\frac{\mu}{\mu^i}} = \rho. \quad (2.27)$$

Damit ergeben sich die Termwerte der Isotopomere zu

$$F(J) = B_v \cdot J \cdot (J + 1) \quad (2.28)$$

und

$$F^i(J) = B_v^i \cdot J \cdot (J + 1) = \rho^2 \cdot B \cdot J \cdot (J + 1). \quad (2.29)$$

Dies ist allerdings eine Näherung für den Fall, dass die Rotation der eines starren Rotators entspricht. Für eine genauere Beschreibung muss noch die Zentrifugaldehnung betrachtet werden, die das Trägheitsmoment Θ vergrößert. Die Zentrifugal-Dehnungskonstante D ist viel kleiner als B_v und definiert als

$$D = \frac{\hbar^3}{4 \cdot \pi \cdot k \cdot \Theta^2 \cdot r^2 \cdot c} = \frac{\hbar^3}{4 \cdot \pi \cdot k \cdot \mu^2 \cdot r^6}. \quad (2.30)$$

Dabei steht k für die Federkonstante einer elastischen Bindung. Für die Rotationsterme ergibt sich dann

$$F(J) = B_v \cdot J \cdot (J + 1) - D \cdot J^2 \cdot (J + 1)^2 \quad (2.31)$$

und

$$F^i(J) = B_v^i \cdot J \cdot (J + 1) - D^i \cdot J^2 \cdot (J + 1)^2 = \rho^2 \cdot B_v \cdot J \cdot (J + 1) - \rho^4 \cdot D \cdot J^2 \cdot (J + 1)^2. \quad (2.32)$$

Damit kann nun die Rotationsisotopenshift nach

$$\Delta F(J) = [F(J') - F(J'')] - [F^i(J') - F^i(J'')] \quad (2.33)$$

berechnet werden. Die Ergebnisse für die Bandenköpfe der acht Hauptzweige sind in Tabelle 2-5 zusammengefasst. Für eine wirklich genaue Betrachtung müssten noch die Konstanten α und β herangezogen werden, die die Abhängigkeit der Rotation von der Vibration beschreiben. Ebenso sind bei der Berechnung Unterschiede der Rotations- und Zentrifugal-Dehnungskonstante bei verschiedenen Rotationszuständen vernachlässigt worden. Die Berechnung ist aber hinreichend genau und erlaubt die Aussage, dass die Rotationsisotopenshift wesentlich kleiner als die Vibrationsisotopenshift ist ($\Delta G \approx 4,3$ gegenüber $\Delta F \approx 0,3$).

Tab. 2-5: Rotationsisotopenshift für die Bandenköpfe der acht Hauptzweige in cm^{-1} .

Übergang	$F(J')$	$F(J'')$	$F^I(J')$	$F^I(J'')$	$\Delta F(J)$
$P_{12}(10, 5)$	198,1	204,7	191,2	197,6	-0,186
$P_{22}(3, 5)$	17,38	26,71	16,77	25,77	-0,328
$Q_{22}(1, 5)$	7,448	6,360	7,185	6,136	0,039
$R_{22}(1, 5)$	17,38	6,360	16,77	6,136	0,389
$P_{11}(8, 5)$	126,6	136,9	122,2	132,2	-0,338
$Q_{11}(2, 5)$	17,38	14,84	16,77	14,32	0,090
$R_{11}(0, 5)$	7,448	1,272	7,185	1,227	0,218
$R_{21}(0, 5)$	7,448	1,272	7,185	1,227	0,218

Da ^{15}NO eine viel geringere relative Häufigkeit als ^{14}NO aufweist (vergleiche hierzu auch Abschnitt 2.1.1), ist die Absorption und damit die im Spektrum resultierende Linienfläche dementsprechend klein. Diese Tatsache stellt besondere Anforderungen an das Nachweisverfahren. Zum Einen reduziert sich der ohnehin schon geringe NO-Gehalt von ca. 10 ppb in der Atemluft auf ca. 37 ppt ^{15}NO (siehe 2.1.3), das Nachweisverfahren muss also sehr sensitiv arbeiten, damit die Signale nicht im Rauschen untergehen. Zum Anderen liegen die Linien von ^{14}NO und ^{15}NO dicht zusammen, wobei auch schwache ^{14}NO Linien wegen der Isotopenverteilung in der Lage sind, ^{15}NO Linien zu überlagern. Diese Tatsache stellt wiederum hohe Anforderungen an die Selektivität, denn bei einer Linienverbreiterung, auf die im Abschnitt 2.6 detailliert eingegangen wird, können die ^{15}NO Linien von benachbarten ^{14}NO Linien komplett überlagert werden, was einen ^{15}NO Nachweis komplett unmöglich machen würde. Zunächst einmal müssen Wellenlängenbereiche gesucht werden, in denen es möglich ist, ^{15}NO zu detektieren. Dies sind idealerweise Bereiche, wo ^{14}NO gar kein Licht absorbiert, ^{15}NO dagegen relativ viel. Um diese Bereiche zu finden, wurde mit dem Computerprogramm PGOPHER[68] ein ^{14}NO Spektrum und ein ^{15}NO Spektrum simuliert und beide Spektren übereinandergelegt. Ein ausgewählter Bereich des Spektrums ist in Abbildung 2-14 dargestellt.

Aus Abbildung 2-14 wird deutlich, dass der Bereich zwischen 226,365 nm ($^{14}\text{NO } P_{11}(9, 5/8, 5)$) und 226,392 nm ($^{14}\text{NO } R_{22}(9, 5)$) am Besten geeignet ist, um ^{15}NO zu detektieren. Dieser Bereich enthält vier Übergänge:

1. $P_{11}(6, 5/11, 5)/R_{22}(10, 5)$
2. $P_{11}(7, 5/10, 5)$
3. $Q_{22}(15, 5)/R_{12}(15, 5)$
4. $P_{11}(8, 5/9, 5)$

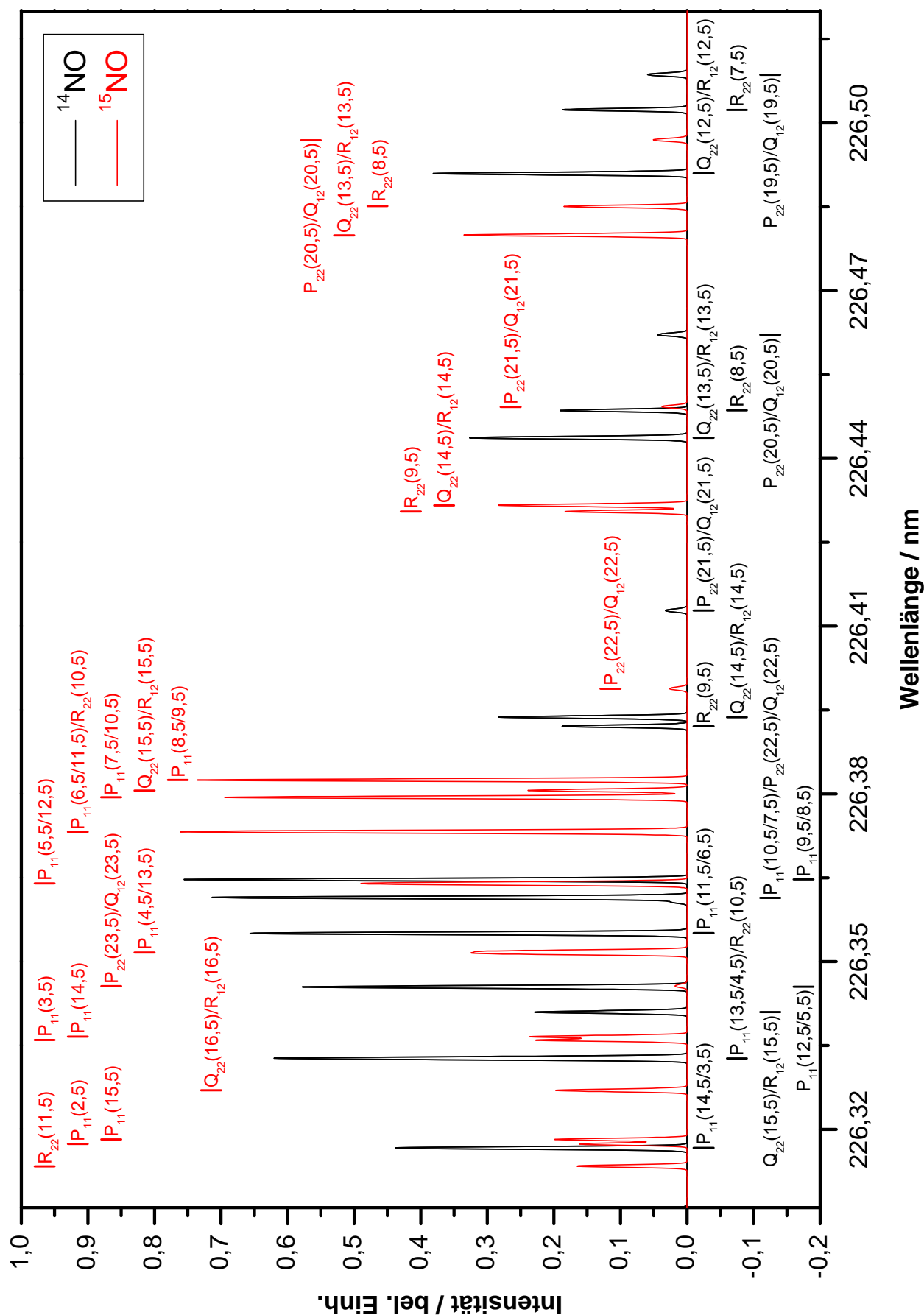


Abb. 2-14: Simulierte Spektren von ^{14}NO und ^{15}NO . Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 3 GHz.[68]

Der schwächste Übergang ($Q_{22}(15, 5)/R_{12}(15, 5)$) fällt mit dem $P_{11}(7, 5/10, 5)$ -Übergang zusammen, weil die Auflösung von LIF nicht ausreicht, um die Übergänge zu trennen. Es erscheinen also 3 Linien im ^{15}NO -Spektrum. Es gibt noch einige weitere ^{15}NO -Linien, die detektierbar sind, allerdings sind deren Intensitäten geringer bzw. der Spektralbereich zur nächsten ^{14}NO -Linie kleiner, so dass der oben erwähnte Bereich für alle Nachweise von ^{15}NO für diese Arbeit verwendet wurde.

2.2.3 Theoretische Nachweisgrenze

Um ^{15}NO direkt ohne Aufkonzentration messen zu können, ist eine Nachweisempfindlichkeit von einigen ppt notwendig. Es soll nun theoretisch gezeigt werden, dass die Sensitivität von LIF ausreichend ist. Eine Betrachtung von WINEFORDNER *et al.* auf die laserinduzierte Fluoreszenz im Allgemeinen ergab eine theoretische Nachweisgrenze von $7,4 \cdot 10^{-5}$ ppt.[69] Dies entspricht 20 Molekülen pro Quadratzentimeter. Die experimentelle Nachweisgrenze verschlechtert sich um zwei Größenordnungen auf etwa 0,01 ppt.

Es soll nun im Einzelnen die Entstehung des Signals und deren Detektion und die daraus resultierende Nachweisempfindlichkeit quantitativ diskutiert werden. Dabei geht es speziell um den Nachweis von ^{15}NO aus der Atemluft mit Hilfe der 3 Übergänge (vergleiche hierzu auch Abschnitt 2.2.2) im $\gamma(0,0)$ -Band:

1. $P_{11}(6, 5/11, 5)/R_{22}(10, 5)$
2. $P_{11}(7, 5/10, 5)$
3. $P_{11}(8, 5/9, 5)$

Der verwendete Anregungslaser hat eine durchschnittliche Energie von $E_L = 500 \mu\text{J}$ pro Puls bei einer Wellenlänge von $\lambda_L = 226,38 \text{ nm}$, einer Pulsdauer von $t_L = 30 \text{ ns}$ und einem Durchmesser von $d_L = 3 \text{ mm}$. Über die Formel

$$F_L = \frac{4 \cdot E_L \cdot \lambda_L}{\pi \cdot h \cdot c \cdot d_L^2 \cdot t_L} \quad (2.34)$$

kann der Photonenfluss F_L berechnet werden. Dabei ist h die Planck-Konstante und c die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum. Damit ergibt sich für den Photonenfluss ein Wert von $F_L = 2,68 \cdot 10^{27} \frac{\text{Photonen}}{\text{m}^2 \cdot \text{s}}$. Die Anzahl der NO-Moleküle, die im Zeitintervall dt vom Zustand $|0\rangle$ in den Zustand $|1\rangle$ promoviert werden, ist gegeben durch:

$$\frac{dN_1(t)}{dt} = \sigma_a \cdot F_L \cdot N_0(t) - \sigma_a \cdot F \cdot N_1(t). \quad (2.35)$$

Dabei repräsentiert $N_1(t)$ die Anzahl aller angeregten Moleküle $|1\rangle$ zur Zeit t und $N_0(t)$ alle Moleküle im Grundzustand $|0\rangle$ zur Zeit t , $N_0(t)$ kann auch durch $(N_G - N_1(t))$ ersetzt werden, wobei N_G für die Gesamtzahl aller vorhandenen NO-Moleküle in $|0\rangle$ steht. Der erste Summand des Terms beschreibt die Anregung der Moleküle durch den Laserpuls, der zweite Summand beschreibt die Anzahl der angeregten Moleküle, die durch induzierte Emission deaktiviert werden. Spontane Emissionen und andere Verlustprozesse sollen auf der Zeitskala des Laserpulses keine Rolle spielen, ebenso soll die Ionisation und die Dissoziation durch Multiphotonenabsorptionen vernachlässigbar klein sein.⁹ Nach Trennung der Variablen, Integration und Umformung ergibt sich für die Anregungseffizienz E_A :

$$E_A = \frac{N_1(t_L)}{N_G} = \frac{1}{2} \cdot (1 - e^{-2 \cdot \sigma_a \cdot F_L \cdot t_L}). \quad (2.36)$$

Dabei ist σ_a der Absorptionsquerschnitt von NO bei dem beobachteten Übergang. Um σ_a abschätzen zu können, muss zuerst der integrierte Absorptionsquerschnitt σ_i berechnet werden:

$$\sigma_i = B_{21} \cdot \frac{h \cdot \nu}{c}. \quad (2.37)$$

Dabei steht B_{21} für den Einsteinkoeffizienten der induzierten Emission, h für die Planck-Konstante, ν für die Frequenz des verwendeten Laserlichts und c für die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum. B_{21} kann über die Beziehung

$$B_{21} = \frac{A_{21} \cdot c^3}{8 \cdot \pi \cdot h \cdot \nu^3} \quad (2.38)$$

⁹Es besteht die Möglichkeit, dass NO durch die Aufnahme eines zweiten Photons ionisiert oder dissoziiert. Beide Prozesse sind unwahrscheinlich. Zwar reicht die Energie von zwei Photonen aus, um NO zu ionisieren, allerdings ist der Ionisationsquerschnitt σ_{io} für den $A^2\Sigma^+(v' = 0)$ Zustand mit $\sigma_{io} = 7.0 \pm 0.9 \cdot 10^{-19} \text{ cm}^2$ erheblich geringer als der Absorptionsquerschnitt σ_a für eine Ein-Photonen-Anregung und damit ist die Ionisation wesentlich unwahrscheinlicher, weshalb sie vernachlässigt werden kann.[70] Die Dissoziation von NO ist theoretisch möglich, da durch Aufnahme eines zweiten Photons der repulsive Zustand $^2\Sigma^+N(^4S) + O(^3P)$ erreicht werden kann. Allerdings ist die Wahrscheinlichkeit einer Dissoziation trotzdem sehr gering, da der repulsive Zustand einige andere Zustände kreuzt. Abbildung 2-15 verdeutlicht diese Tatsache. Für die resonante Zwei-Photonen-Anregung in den repulsiven Zustand sind keine Literaturdaten vorhanden, aber es kann davon ausgegangen werden, dass der Dissoziationsquerschnitt kleiner als der Ionisationsquerschnitt ist, weshalb er ebenfalls in guter Näherung vernachlässigt werden kann.

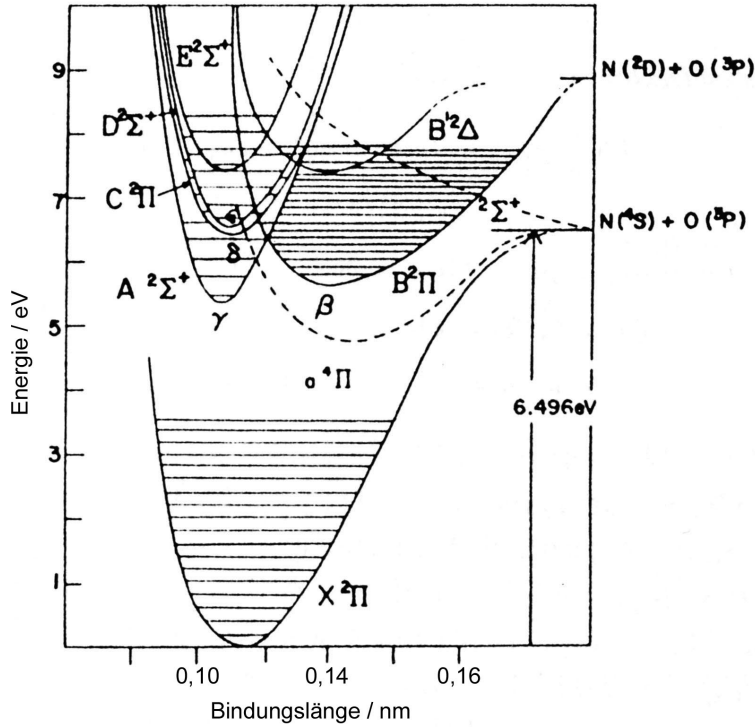


Abb. 2-15: Die Potentialkurven von NO.[41]

berechnet werden. Die Konstante A_{21} ist der Einsteinkoeffizient für die spontane Emission, der dem Kehrwert der natürlichen Lebensdauer entspricht. Bei einer natürlichen Lebensdauer von $205 \pm 7 \text{ ns}$ ist $A_{21} = 4,88 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ und damit $B_{21} = 3,40 \cdot 10^{18} \text{ m}^3 \cdot \text{J}^{-1} \cdot \text{s}^{-2}$. [71] Damit kann σ_i nach Gleichung 2.37 zu $9,95 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ berechnet werden. Der integrierte Absorptionsquerschnitt ist über die spektrale Breite des Anregungslasers $d\nu$ integriert:

$$\sigma_i \approx \sigma_t \cdot d\nu. \quad (2.39)$$

Nach Division durch die Laserlinienbreite, die vom Hersteller mit $d\nu_L = 6 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$ angegeben wird, ergibt sich der totale Absorptionsquerschnitt σ_t zu $1,66 \cdot 10^{-18} \text{ m}^2$. Dieser totale Absorptionsquerschnitt muss nun noch mit dem Franck-Condon Faktor f_{FC} und dem Hönl-London Faktor f_{HL} des betreffenden Übergangs multipliziert werden:

$$\sigma_a = \sigma_t \cdot f_{FC} \cdot f_{HL} \quad (2.40)$$

Mit dem Franck-Condon Faktor des beobachteten Übergangs ($A^2\Sigma^+(v' = 0) \leftarrow X^2\Pi_{\frac{1}{2}}(v'' = 0)$) von $f_{FC} = 0,165$ [72] und dem Hönl-London Faktor für den $P_{11}(8, 5/9, 5)$ -Übergang von $f_{HL} = 0,151$ [73] ergibt sich ein Absorptionsquerschnitt von $\sigma_a = 4,1 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$. Damit kann die Anregungseffizienz nach Gleichung 2.36 berechnet werden. Es ergibt sich ein Wert von

Tab. 2-6: Besetzungsanteile der beobachteten ^{15}NO -Übergänge.

Übergang	Besetzungsanteil $P(J'')$
$P_{11}(6, 5/11, 5)/R_{22}(10, 5)$	0,113
$P_{11}(7, 5/10, 5)$	0,105
$P_{11}(8, 5/9, 5)$	0,096

$E_A = 0,499$. Es müssen nun noch der Besetzungsanteil und das Anregungsvolumen berücksichtigt werden. Der Besetzungsanteil $P(J'')$ beschreibt, wieviele Moleküle sich genau in dem Rotationszustand befinden, der beobachtet wird. Die Besetzungsanteile für die oben genannten Übergänge sind in Tabelle 2-6 dargestellt. Bei der Berechnung wurde davon ausgegangen, dass sich alle NO-Moleküle im vibronischen Grundzustand befinden. Die Daten fußen auf den in Tabelle 2-2 dargestellten Populationen der Rotationszustände.

Für die Detektionsgrenze kann der am höchsten populierte Zustand herangezogen werden. Die Teilchendichte $\frac{N_G}{V}$ ist dem Partialdruck von NO in der Messzelle proportional. Dabei können nur Moleküle detektiert werden, die im Probenvolumen V_P angeregt werden. Dieses entspricht dem Volumen, das durch die Abbildungsoptik auf die Photokathode des Photomultipliers abgebildet wird. Die Anordnung der Detektionsoptik ist in Abbildung 2-16 dargestellt. Damit ergibt sich die ungefähre Größe des Probenvolumens V_P zu $0,1 \text{ cm}^3$.

Die Anzahl der angeregten Moleküle N_1 lässt sich also berechnen nach

$$N_1 = \frac{N_G}{V} \cdot E_A \cdot P(J'') \cdot V_P \quad (2.41)$$

und ergibt mit den oben hergeleiteten Daten:

$$N_1 = \frac{N_G}{V} \cdot 5,6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3. \quad (2.42)$$

Nun muss abgeschätzt werden, wieviele dieser angeregten Moleküle tatsächlich fluoreszieren. Dies kann durch folgenden Term beschrieben werden:

$$f_f = \frac{k_f}{[k_f + \sum k_q(M)]}. \quad (2.43)$$

Dabei ist k_f der Kehrwert der natürlichen Lebensdauer τ_{nat} und k_q die Geschwindigkeitskonstante der Fluoreszenzlöschung, die durch die Summenbildung der beteiligten Spezies (M) auf das Gasgemisch angepasst wird. Mit einer Lebensdauer von $\tau_{nat} = 205 \text{ ns}$ (s.o.) und einer kombinierten Fluoreszenzlöschungskonstante für Atemluft bei 12 mbar von $k_q = 2,28 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$

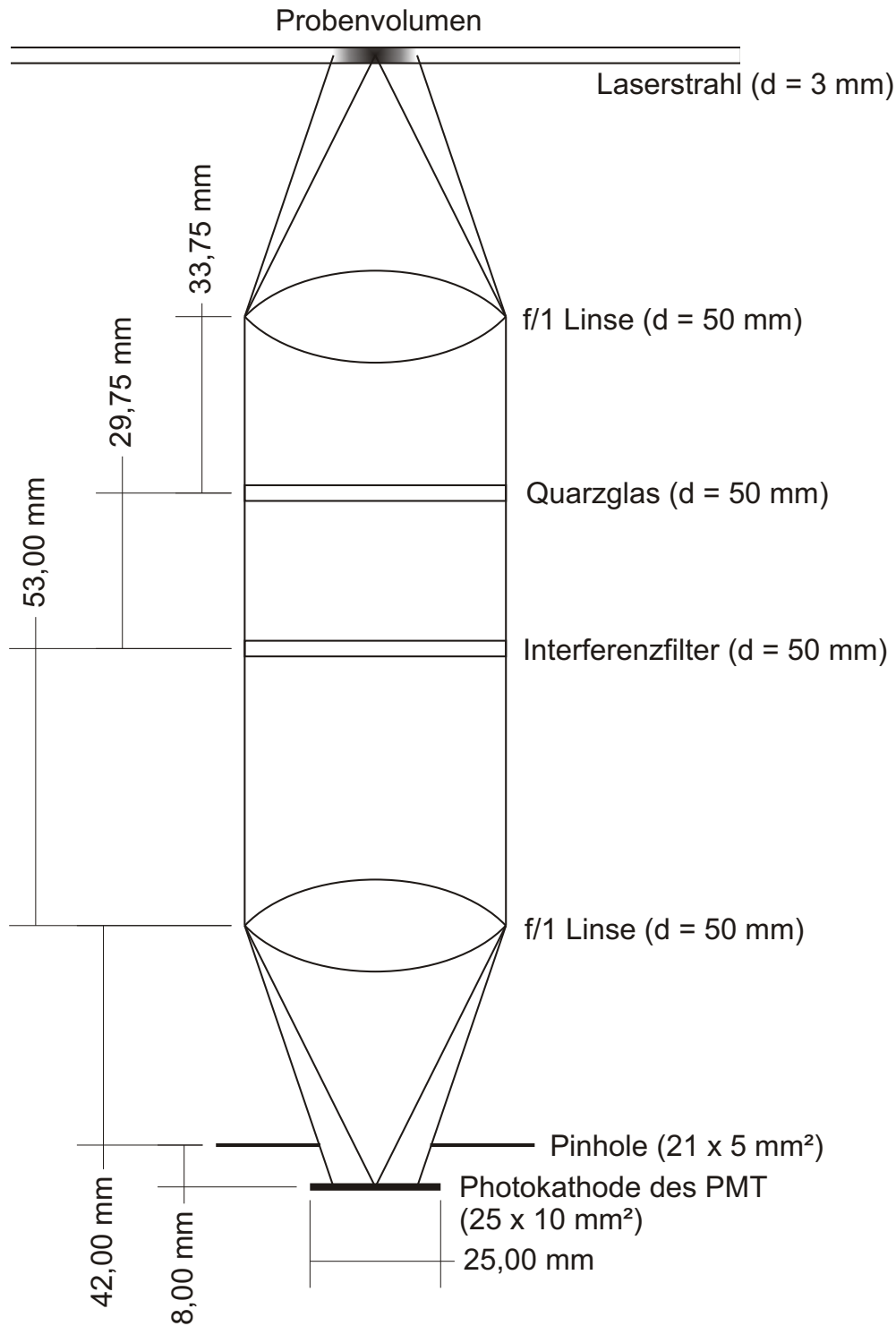


Abb. 2-16: Die Detektionsoptik im Detail.

(siehe Tabelle 2-8), ergibt sich der Fluoreszenzfaktor zu $f_f = 0,176$. Für die Berechnung des absoluten Detektionslimits kann die Fluoreszenzlöschungskonstante vernachlässigt werden. In diesem Fall ist dann $k_q = 0 \text{ s}^{-1}$ und damit der Fluoreszenzfaktor $f_f = 1$.

Als Letztes muss betrachtet werden, wieviel der entstehenden Fluoreszenz tatsächlich detektiert wird. Die Detektionsoptik erfasst nur einen Winkel von $53,1^\circ$, damit ergibt sich ein Faktor f_{opt} von 0,053. Insgesamt muss das Fluoreszenzlicht 5 Optiken passieren, bevor es auf die Photokathode trifft. Dabei verliert das Signal etwa 40 % an Intensität ($f_{ref} = 0,6$). Hinzu kommt, dass der verwendete Interferenzfilter nur für einen Wellenlängenbereich von $248 \pm 3 \text{ nm}$ durchlässig ist. Dieser Filter wird verwendet, um das auftretende Streulicht, dass durch Rayleigh-Streuung bei der Anregungswellenlänge entsteht, vom Photomultiplier fernzuhalten, um das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Im Wellenlängenbereich des Filters liegt nur der Übergang $v' = 0 \rightarrow v'' = 2$, der bei $247,4 \text{ nm}$ auftritt. Es muss also noch der Franck-Condon-Faktor f_{FC} für diesen Übergang berücksichtigt werden, der mit 0,236 angegeben wird.[72] Der Filter hat bei dem beobachteten (0,2)-Übergang eine Transparenz von ca 12 % ($f_{fil} = 0,12$) (Herstellerangabe). Der verwendete Photomultiplier hat eine Quantenausbeute von 30 % ($f_q = 0,3$) (Herstellerangabe). Es fehlt noch ein Faktor für die elektronische Detektionseffizienz f_{el} . Dieser kann in guter Näherung als 1 angenommen werden. Die Berechnung der Detektionseffizienz f_d lautet

$$f_d = f_{opt} \cdot f_{ref} \cdot f_{fil} \cdot f_{FC} \cdot f_q \cdot f_{el} \quad (2.44)$$

mit den Werten

Sammellinse	$f_{opt} = 0,053$
Reflexionsverluste	$f_{ref} = 0,6$
Interferenzfilter	$f_{fil} = 0,12$
Franck-Condon Faktor	$f_{FC} = 0,236$
Quantenausbeute	$f_q = 0,3$
elektronische Detektionseffizienz	$f_{el} = 1.$

Damit ergibt sich ein Faktor für die Detektionseffizienz von $f_d = 2,7 \cdot 10^{-4}$. Nun kann die Anzahl der detektierten Photonen mit

$$D = N_1 \cdot f_f \cdot f_d \quad (2.45)$$

berechnet werden. Damit ergibt sich ein Wert von $D = \frac{N_G}{V} \cdot 2,7 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^3$ für Atemluft und $D = \frac{N_G}{V} \cdot 1,5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^3$ für ein nicht fluoreszenzgelöschtes Signal. Um ein Photon zu detektieren, müssen sich also $3,7 \cdot 10^6 \frac{\text{NO-Molekuele}}{\text{cm}^3}$ (in Atemluft) bzw. $6,7 \cdot 10^5 \frac{\text{NO-Molekuele}}{\text{cm}^3}$ (ohne Fluoreszenzlöschung) in der Zelle befinden. Dies entspricht bei einem Gesamtdruck von 12 mbar etwa einer Konzentration von 13 ppt in Atemluft bzw 2 ppt beim nicht fluoreszenzgelöschten Signal. Da in der Atemluft eine ^{15}NO -Konzentration von etwa 40 ppt vorliegt, kann ^{15}NO direkt gemessen werden. Durch Integration und Mittelung des elektronischen Signals kann die Nachweisgrenze noch verringert werden.

2.3 Zwei-Photonen-LIF

Das Prinzip des Zwei-Photonen-LIF Experiments ist dem der Ein-Photonen-LIF sehr ähnlich. Die Anregung erfolgt durch eine Zwei-Photonen-Absorption. Die Photonen haben die doppelte Wellenlänge des Photons, das bei der Ein-Photonen-Anregung benutzt wird. Es wird also der gleiche Übergang benutzt. Das erste Photon regt das NO-Molekül in einen virtuellen Zustand an, der angeregte Zustand wird durch die Absorption des zweiten Photons erreicht. Da der virtuelle Zustand eine nur durch die Unschärferelation ($\Delta E - \Delta t \geq t_{\frac{1}{2}}$) bestimmte kurze Lebensdauer hat, kann von einer simultanen Absorption zweier Photonen ausgegangen werden.

Im Vergleich zum Experiment mit einer Ein-Photonen-Absorption ergeben sich einige Vor- und Nachteile. Die Vorteile sind:

- Die Anregungswellenlänge ist von der Fluoreszenzwellenlänge stark separiert, wodurch erstens mehr Fluoreszenzlicht eingefangen und zweitens das auftretende Streulicht einfacher abgetrennt werden kann.
- Die Selektivität ist aufgrund veränderter Auswahlregeln höher.
- Die Laserintensität ist höher, da keine Frequenzverdoppelung nötig ist.

Als Nachteile erweisen sich:

- Die simultane Zwei-Photonen-Anregung über einen virtuellen Zustand hat einen sehr viel niedrigeren Absorptionsquerschnitt als die Ein-Photonen-Anregung. Das bedeutet, dass die Photonendichte möglichst hoch sein muß. Der Laserstrahl muss deswegen fokussiert werden.
- Durch das Fokussieren minimiert sich das Anregungsvolumen und damit auch die Anzahl der Teilchen, die sich darin befinden.

Da die Nachteile stärker wiegen als die Vorteile, wurde bei dieser Arbeit überwiegend Ein-Photonen-LIF verwendet. Ein Zwei-Photonen-Experiment wurde nur durchgeführt, um die prinzipielle Tauglichkeit der Apparatur unter Beweis zu stellen. Aus diesem Grund wird der theoretische Hintergrund des Zwei-Photonen-Experiments knapper behandelt als die Theorie des Ein-Photonen-Experiments.

2.3.1 Übergänge

Es wurde schon erwähnt, dass die Auswahlregeln für Zwei-Photonen-Übergänge sich von denen für Ein-Photonen-Übergänge unterscheiden. Dies liegt an der Aufnahme von zwei Photonen statt einem und der daraus resultierenden Betrachtung der Drehimpulserhaltung. Die Auswahlregeln lauten:

$$\begin{aligned}\Delta\Lambda &= 0, \pm 1, \pm 2 & (I) \\ \Delta S &= 0 & (II) \\ \Delta J &= 0, \pm 1, \pm 2^{10} & (III) \\ + &\leftrightarrow + \text{ bzw. } - \leftrightarrow - & (IV).\end{aligned}$$

Es resultieren 20 erlaubte Zweige:

$$O_{11}, O_{12}, O_{21}, O_{22}, P_{11}, P_{12}, P_{21}, P_{22}, Q_{11}, Q_{12}, Q_{21}, Q_{22}, R_{11}, R_{12}, R_{21}, R_{22}, S_{11}, S_{12}, S_{21}, S_{22}.$$

Die Zweige sind in Abbildung 2-17 dargestellt. Wie beim Ein-Photonen-Experiment ist diese Betrachtung nur für den Hundschen Fall (a) gültig. Für den Hundschen Fall (b) wird deutlich, dass das Spektrum aus 10 Hauptzweigen, 8 Satellitenzweigen und 2 verbotenen Zweigen besteht, da zusätzlich die Auswahlregel

$$\Delta N = 0, \pm 1, \pm 2 \quad (V)$$

beachtet werden muss. Die Zweige sind in Abbildung 2-18 dargestellt.

Eine Besonderheit ist die Intensitätsverteilung der Q-Zweige. Die Q-Zweige sind symmetrisch ungünstig und daher im Spektrum nur von schwacher Intensität. Die Hauptzweige Q_{11} und Q_{22} werden von ihren Satellitenzweigen überlagert, die wesentlich intensiver sind. Das Fortrat-Diagramm (Abbildung 2-19) verdeutlicht das Zusammenfallen der Hauptzweigen mit den Satellitenzweigen. Im gemessenen Spektrum sind dann 12 Zweige aufgelöst:

¹⁰Der Übergang $J'=0 \leftarrow J''=0$ stellt einen Sonderfall dar, der, obwohl er der Auswahlregel genügt, trotzdem verboten ist. Beim NO ist dies unerheblich, da die Zustände $J'=0$ und $J''=0$ nicht existieren.

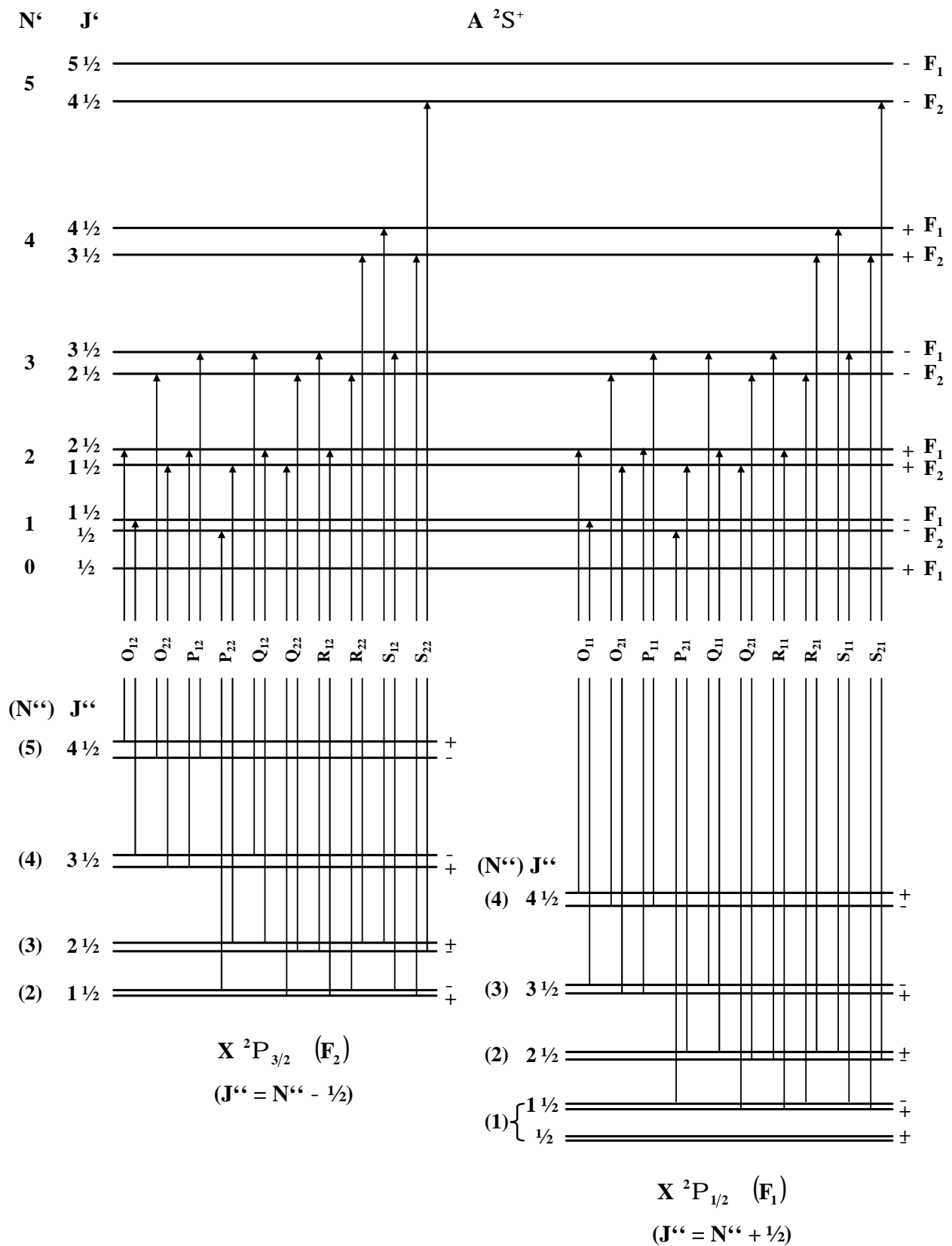


Abb. 2-17: Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls bei einer Zwei-Photonen-Anregung. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabgetreu wiedergegeben und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (a). [65]

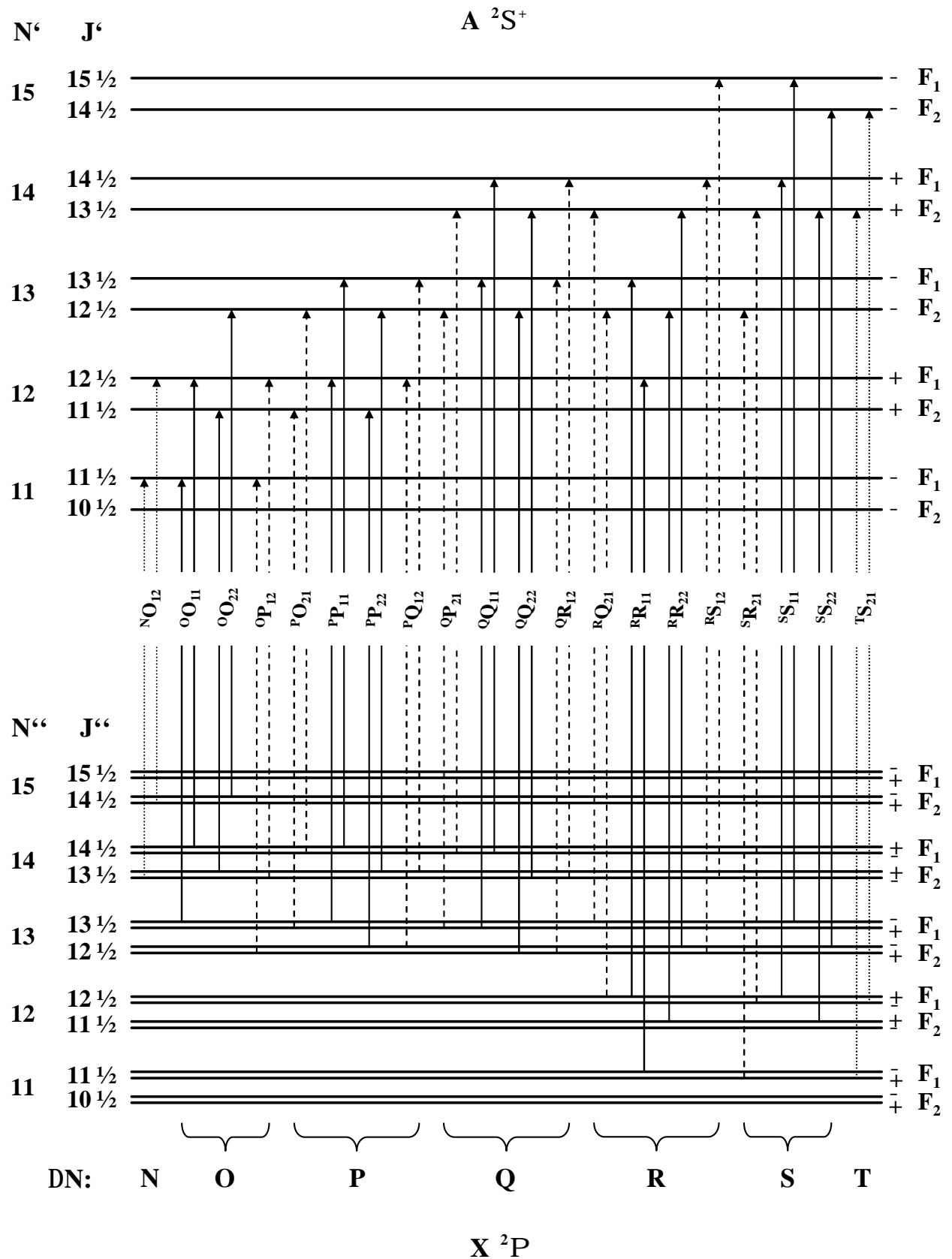


Abb. 2-18: Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls bei einer Zwei-Photonen-Anregung. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabsgetreu wiedergegeben und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (b).[65]

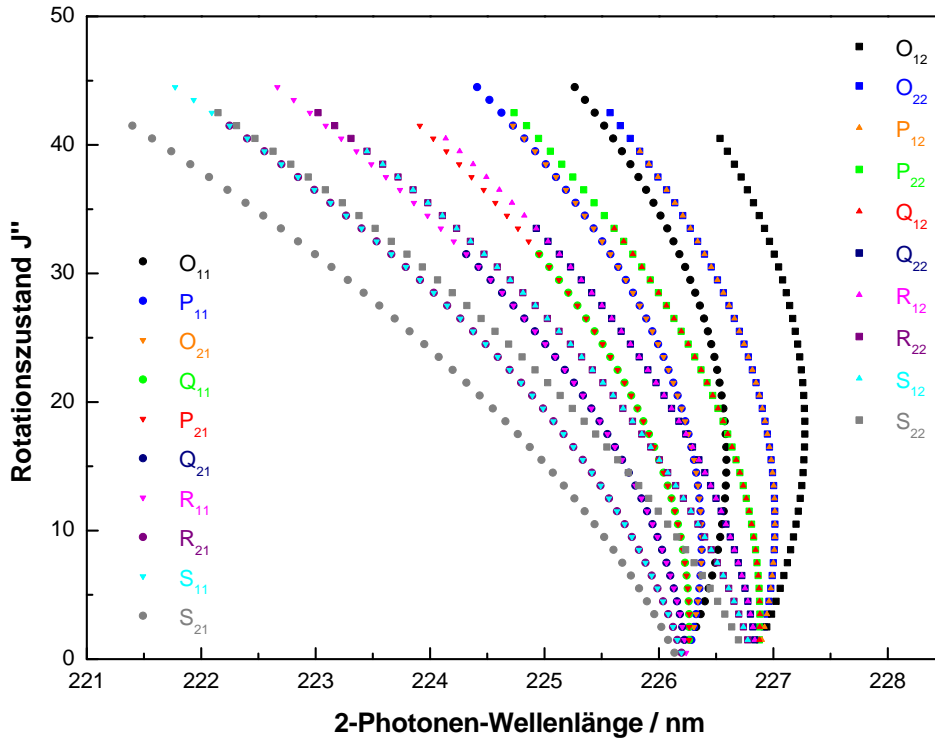


Abb. 2-19: Fortrat-Diagramm bei einer 2-Photonen-Anregung von NO.

$$O_{12}, O_{22}, P_{22}, Q_{22}, R_{22}, S_{22}, O_{11}, P_{11}, Q_{11}, R_{11}, S_{11}, S_{21}.$$

Diese Zweige sind in den Abbildungen 2-20 bis 2-22 dargestellt.

Um nun eine isotopenselektive Messung durchführen zu können, wurde analog zum Ein-Photonen-Experiment ein ^{15}NO Spektrum simuliert und mit dem ^{14}NO Spektrum verglichen. Der relevante Bereich ist in Abbildung 2-23 dargestellt. Der Wellenlängenbereich, der sich gut zur Detektion von ^{15}NO eignet, ist der Bereich zwischen 226,379 nm (^{14}NO $S_{22}(5,5)$) und 226,393 nm (^{14}NO $O_{11}(3,5)$). Dieser Bereich enthält vier Linien:

1. $P_{11}(6,5/11,5)/O_{21}(6,5/11,5)/R_{22}(10,5)/S_{12}(10,5)$
2. $O_{11}(3,5)$
3. $P_{11}(7,5/10,5)/O_{21}(7,5/10,5)/Q_{22}(15,5)/R_{12}(15,5)$
4. $P_{11}(8,5/9,5)/O_{21}(8,5/9,5)$

Der schwächste Übergang ($O_{11}(3,5)$) fällt mit dem $P_{11}(6,5/11,5)/O_{21}(6,5/11,5)/R_{22}(10,5)/S_{12}(10,5)$ -Übergang zusammen, weil die Auflösung von LIF nicht ausreicht, um die Übergänge zu trennen. Es erscheinen also 3 Linien im ^{15}NO Spektrum.

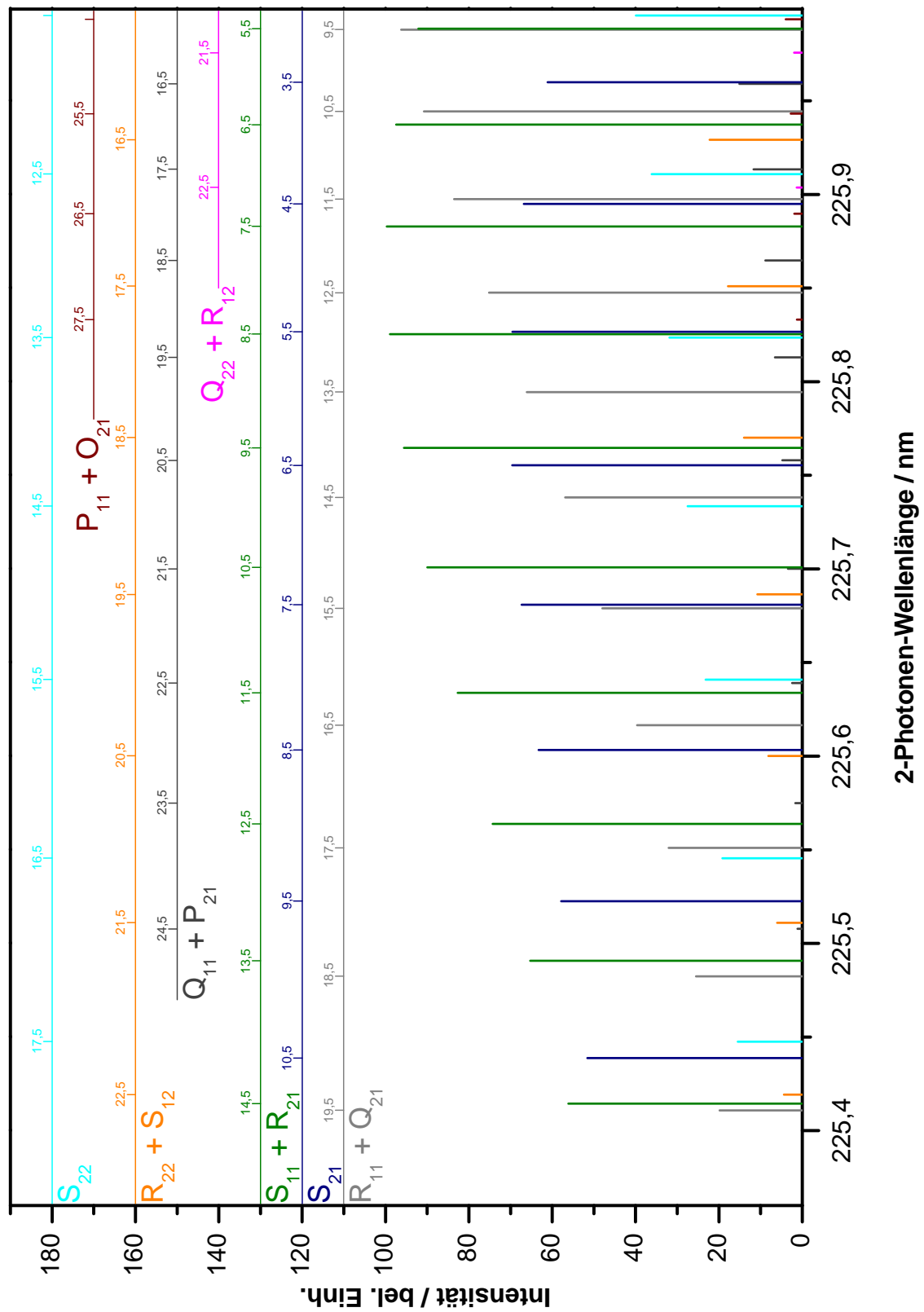


Abb. 2-20: Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 225,36 nm bis 226,00 nm bei einer 2-Photonen-Anregung. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen.[68]

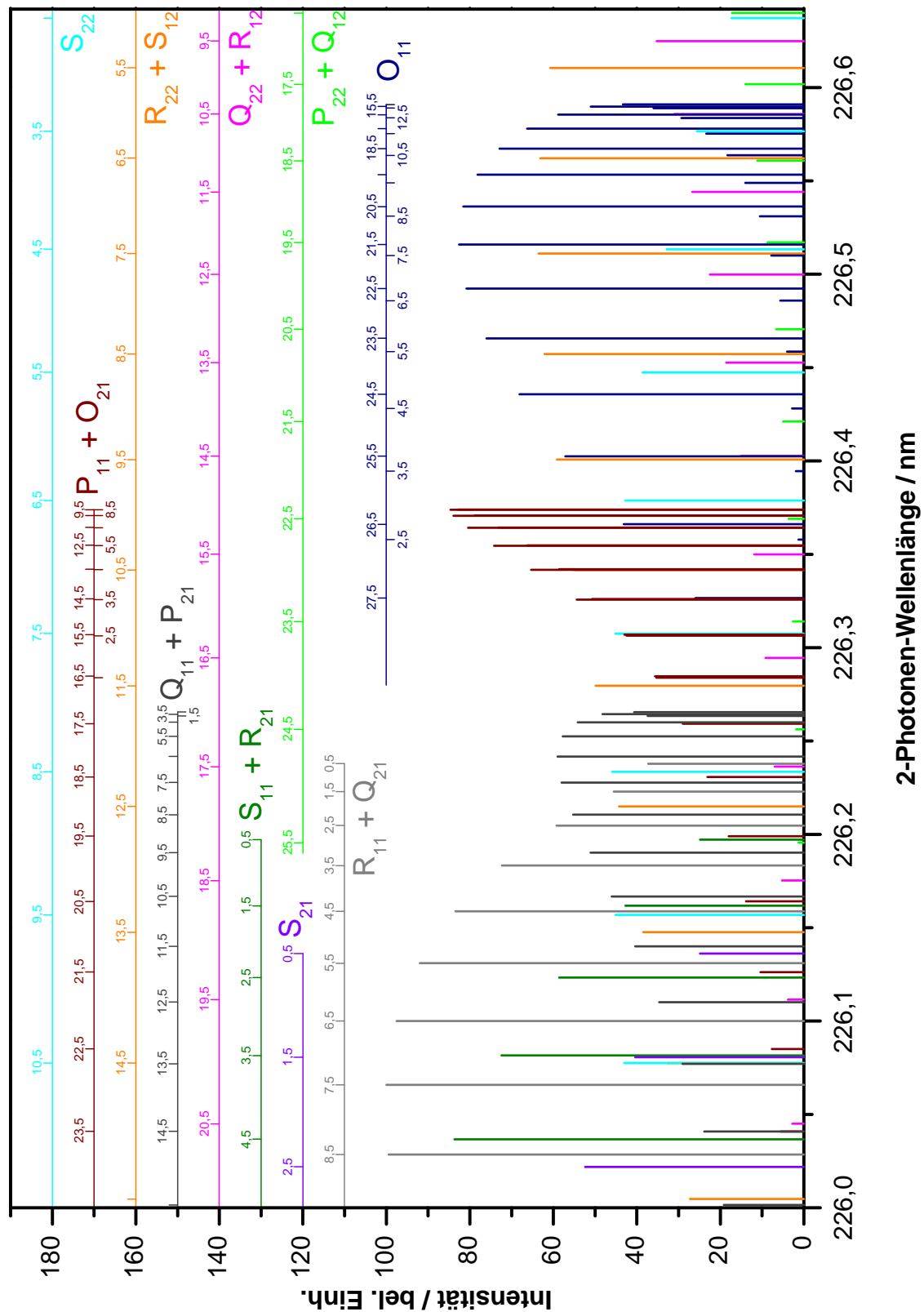


Abb. 2-21: Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 226,00 nm bis 226,64 nm bei einer 2-Photonen-Anregung. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen.[68]

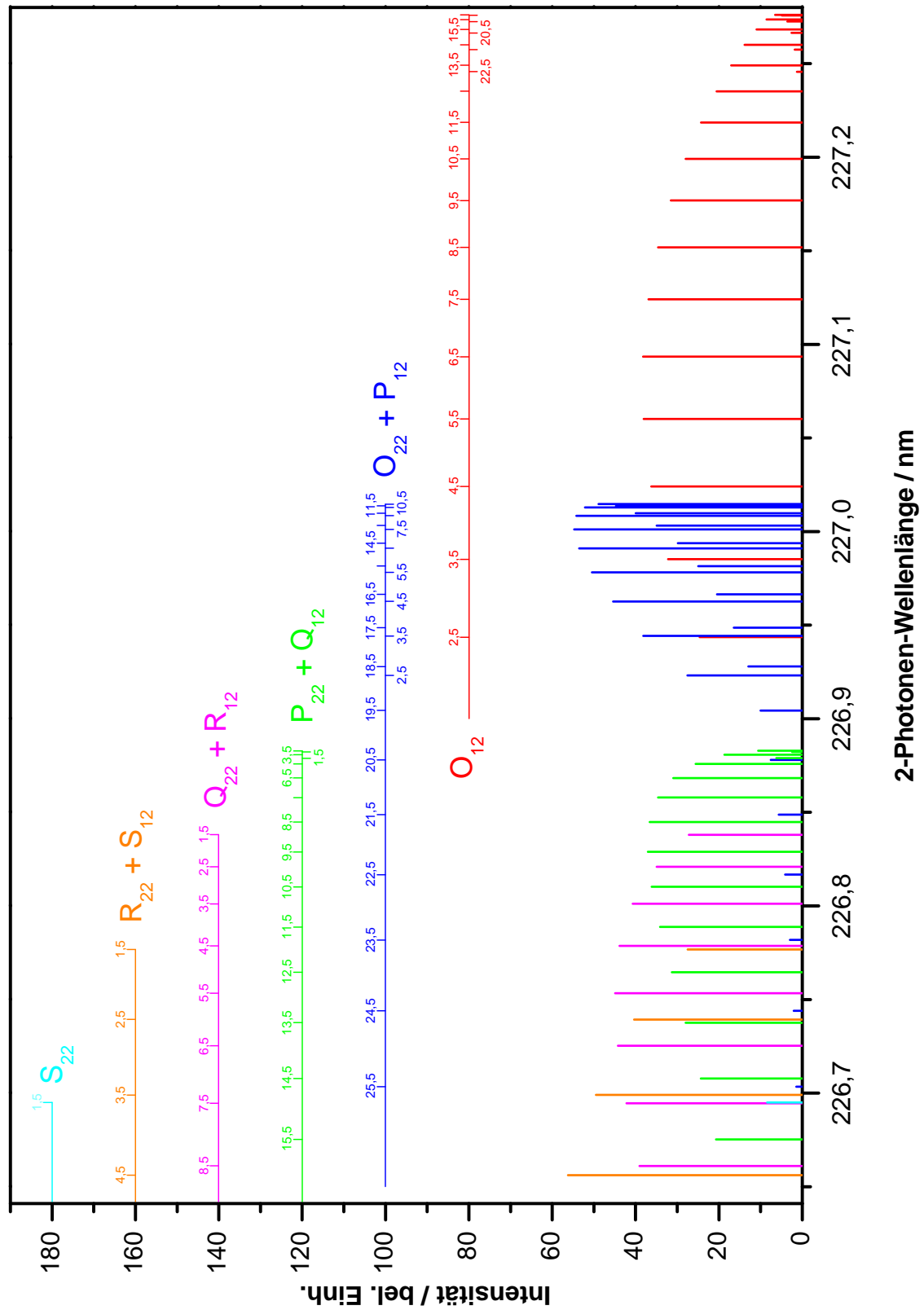


Abb. 2-22: Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 226,64 nm bis 227,28 nm bei einer 2-Photonen-Anregung. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen.[68]

2.3.2 Theoretische Nachweisgrenze

Dadurch, dass beim Zwei-Photonen-Experiment keine Frequenzverdoppelung benutzt werden muss, steht mehr Laserenergie zur Verfügung. Es wird von einer durchschnittlichen Energie von $E_L = 5 \text{ mJ}$ pro Puls bei einer Wellenlänge von $\lambda_L = 452,76 \text{ nm}$ und einer Pulsdauer von $t_L = 30 \text{ ns}$ ausgegangen. Um die Photonendichte zu erhöhen, wird der Laserstrahl fokussiert. Der Durchmesser des fokussierten Laserstrahls d_f kann nach

$$d_f = \frac{\lambda_L \cdot f_l}{\pi \cdot d_L} \quad (2.46)$$

abgeschätzt werden. Bei einem Durchmesser des unfokussierten Laserstrahls d_L von 3 mm und einer Brennweite der verwendeten Linse $f_l = 30 \text{ cm}$ ergibt sich ein Durchmesser des Fokus von $d_f = 14 \text{ }\mu\text{m}$. Damit kann nun der Photonenfluss F_L nach Gleichung 2.34 berechnet werden. Für den Photonenfluss ergibt sich ein Wert von $F_L = 2,47 \cdot 10^{33} \frac{\text{Photonen}}{\text{m}^2 \cdot \text{s}}$. Die Berechnung, wieviele Moleküle pro Zeiteinheit angeregt werden, erfolgt analog zu Gleichung 2.35, allerdings geht der Photonenfluss quadratisch ein. Es gilt:

$$\frac{dN_1(t)}{dt} = \delta_a \cdot F^2 \cdot N_0(t) - \delta_a \cdot F^2 \cdot N_1(t). \quad (2.47)$$

Dabei ist δ_a der Zwei-Photonen-Absorptionsquerschnitt. Andere Prozesse werden, genau wie beim Ein-Photonen-Experiment, vernachlässigt. Analog zum Ein-Photonen-Experiment ergibt sich nach Trennung der Variablen, Integration und Umformung für die Anregungseffizienz E_A :

$$E_A = \frac{N_1(t_L)}{N_G} = \frac{1}{2} \cdot \left(1 - e^{-2 \cdot \delta_a \cdot F_L^2 \cdot t_L}\right). \quad (2.48)$$

Mit einem Zwei-Photonen-Absorptionsquerschnitt δ_a von $(2,9 \pm 1,8) \cdot 10^{-49} \text{ cm}^4 \cdot \text{s}$ lässt sich die Anregungseffizienz mit $E_A = 0,5$ angeben.[74] Es wird also auch hier im Sättigungsbereich operiert. Der Besetzungsanteil $P(J'')$ ist wie beim Ein-Photonen-Experiment 0,113. Das Anregungsvolumen ist nicht genau bestimmbar, da der Laserstrahl fokussiert wird. Näherungsweise wird mit einem Anregungsvolumen von $V_P \approx 3 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3$ gerechnet.[75] Damit ergibt sich für die Anzahl der angeregten Moleküle nach Gleichung 2.41:

$$N_1 = \frac{N_G}{V} \cdot 1,7 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3. \quad (2.49)$$

Es wird der gleiche elektronische Übergang verwendet, also sind die in Gleichung 2.43 verwendeten Ausdrücke für die Fluoreszenz und die Fluoreszenzlöschung gleich, der Fluoreszenzfaktor ergibt sich zu $f_f = 0,176$ für Atemluft und $f_f = 1$ für ein Signal ohne Fluoreszenzlöschung.

Die Detektionseffizienz ist höher als beim Ein-Photonen-Experiment, da bei Benutzung von einem Solar-Blind-Photomultiplier auf den Interferenzfilter verzichtet werden kann, was dazu führt, dass nicht nur der Übergang $A(v' = 0) \rightarrow X(v'' = 2)$ detektiert wird, sondern jegliche Fluoreszenz im UV-Bereich, damit ist der Franck-Condon Faktor annähernd 1. Für die Detektionseffizienz ergibt sich nach Gleichung 2.44 ein Wert von $f_d = 9,5 \cdot 10^{-3}$. Nun kann die Anzahl der detektierten Photonen nach Gleichung 2.45 berechnet werden. Damit ergibt sich ein Wert von $D = \frac{N_G}{V} \cdot 2,8 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^3$ für Atemluft und $D = \frac{N_G}{V} \cdot 1,6 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^3$ für ein Signal ohne Fluoreszenzlöschung. Um ein Photon zu detektieren, müssen sich also $3,6 \cdot 10^7 \frac{\text{NO-Molekuele}}{\text{cm}^3}$ (in Atemluft) bzw. $6,3 \cdot 10^6 \frac{\text{NO-Molekuele}}{\text{cm}^3}$ (ohne Fluoreszenzlöschung) in der Zelle befinden. Dies entspricht bei einem Gesamtdruck von 12 mbar etwa einer Konzentration von 124 ppt in Atemluft und 22 ppt beim nicht fluoreszenzgelöschten Signal. Es wird also deutlich, dass das Ein-Photonen-Experiment wesentlich sensitiver ist, und dass es schwer möglich ist, ^{15}NO in der Atemluft ohne Mittelung und Aufkonzentration mit Hilfe einer Zwei-Photonen-Anregung nachzuweisen.

2.4 Fluoreszenzlöschung

Durch die strahlungslose Desaktivierung der angeregten NO-Moleküle wird die Lebensdauer des angeregten Zustands verkürzt und damit das detektierbare Signal abgeschwächt. Diese Abschwächung ist abhängig vom Zellendruck und den vorhandenen Stoßpartnern. Um den Zellendruck für eine Signalmaximierung zu optimieren, soll der optimale Zellendruck für verschiedene Gasmischungen berechnet werden (Atemluft, Laborluft, Kalibriergas¹¹).

Im Abschnitt 2.2.3 wurde betrachtet, wieviele der vorhandenen NO-Moleküle N_0 angeregt werden. Nun soll gezeigt werden, wie Kollisionen mit Fremtteilchen die angeregten Teilchen N_1 beeinflussen. Zunächst soll davon ausgegangen werden, dass die angeregten Teilchen N_1 nur durch Fluoreszenz in den Grundzustand N_0 zurückkehren. Dieser Mechanismus kann durch ein Geschwindigkeitsgesetz 1. Ordnung beschrieben werden:

¹¹Kalibriergas ist eine Gasmischung aus NO und Stickstoff. Die NO-Konzentrationen liegt im ppm-Bereich oder darunter, deswegen hat das Gas praktisch die Eigenschaften von reinem Stickstoff.

$$\frac{dN_1}{dt} = -k_F \cdot N_1. \quad (2.50)$$

Die Geschwindigkeitskonstante k_F entspricht dem Einsteinkoeffizienten A_{21} für spontane Emission und ist deswegen gleich dem Kehrwert der natürlichen Lebensdauer τ_{nat} . Durch Integration von $t = 0$ bis t wird aus dem Geschwindigkeitsgesetz:

$$\frac{N_1(t)}{N_1(t_0)} = e^{-k_F \cdot t} = e^{\frac{-t}{\tau_{nat}}}. \quad (2.51)$$

Die natürliche Lebensdauer τ_{nat} ist die Zeit, die es dauert, bis von der anfänglichen Konzentration angeregter Teilchen $N_1(t_0)$ gerade noch $\frac{N_1(t_0)}{e}$ angeregte Teilchen vorhanden sind. Da die messbare Fluoreszenzintensität $I(t)$ proportional zur Anzahl der angeregten Teilchen ist, gilt:

$$\frac{N_1(t)}{N_1(t_0)} = \frac{I(t)}{I_0}. \quad (2.52)$$

Da die Fluoreszenzintensität $I(t)$ exponentiell abnimmt, kann die I_G , also die Gesamtzahl aller Photonen, die emittiert werden, durch Integration der Abklingkurve berechnet werden:

$$I_G = \int_0^{\infty} I(t) dt = \int_0^{\infty} I_0 \cdot e^{\frac{-t}{\tau_{nat}}} dt = I_0 \cdot \tau_{nat}. \quad (2.53)$$

Bei der Detektion wird aber nicht die insgesamt auftretende Fluoreszenz detektiert, sondern nur die in einem bestimmten Zeitfenster. Dieses Zeitfenster sollte so gewählt werden, dass ein maximales Signal-zu-Rausch-Verhältnis gewährleistet wird. Je nach Intensität des auftretenden Streulichts beginnt das Fenster bei $t = 0$ und dem Abklingen des Streulichts, also der Dauer des Anregungspulses. Das Zeitintervall sollte enden, bevor die Fluoreszenzintensität im Grundrauschen untergeht. Abbildung 2-24 illustriert den Zusammenhang zwischen der zeitabhängigen Fluoreszenzintensität $I(t)$ und der detektierten Fluoreszenzintensität I_{obs} im Intervall t_{obs} .

Damit ist die observierte Intensität immer kleiner als die Gesamtintensität und es gilt:

$$I_{obs} = I_0 \cdot \int_{t_A}^{t_E} e^{\frac{-t}{\tau_{nat}}} dt < I_G. \quad (2.54)$$

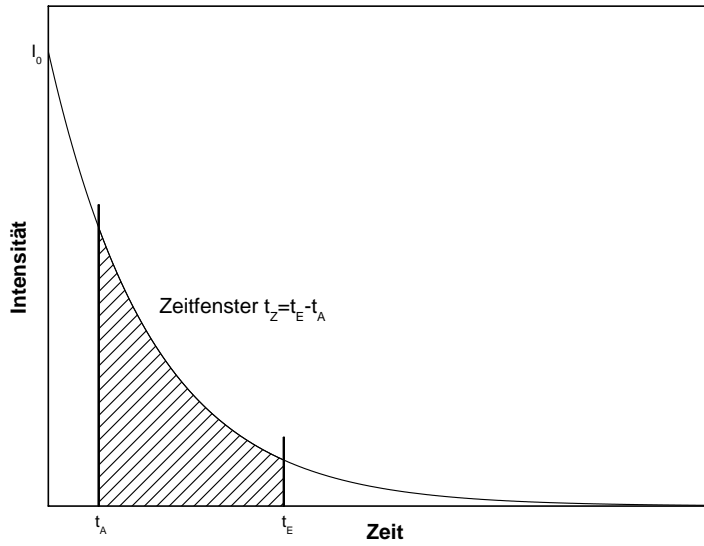


Abb. 2-24: Abklingkurve der Fluoreszenzintensität.

Die maximale Intensität I_G ist proportional zur Anzahl der angeregten Moleküle N_1 und damit auch zur Anzahl der in der Zelle befindlichen NO-Moleküle. Da der Partialdruck das Maß für die Anzahl der NO-Teilchen ist, kann folgende Abhängigkeit zwischen dem Druck und der Intensität formuliert werden:

$$I_G \propto N_1(t_0) \propto N_0 \propto p(\text{NO}) \propto p. \quad (2.55)$$

Die Proportionalitäten können zur Konstante A_q zusammengefasst werden, so dass sich Gleichung 2.55 zu

$$I_G = A_q \cdot p \quad (2.56)$$

vereinfacht. Gleichung 2.54 stellt einen Idealfall dar, der nur dann gilt, wenn keine Fluoreszenzlöschung auftritt. Sobald es zur Stoßdeaktivierung kommt, verringert sich die Anzahl der angeregten Teilchen N_1 und damit auch die beobachtete Fluoreszenzlebensdauer τ_{obs} . Der Zusammenhang zwischen der beobachteten Fluoreszenzlebensdauer und der Stoßdeaktivierung ist:

$$\tau_{obs} = \frac{1}{k_F + \sum k_{Q,i} \cdot p_i}. \quad (2.57)$$

Dabei ist $k_{Q,i}$ die Geschwindigkeitskonstante der Stoßdeaktivierung. Die Multiplikation der einzelnen Partialdrücke mit den dazugehörigen, stoffspezifischen Fluoreszenzlöschungskonstanten dient der Wichtung der vorhandenen Spezies bei der Stoßdeaktivierung. Die stoffspezifischen Fluoreszenzlöschungskonstanten der relevanten Gase sind in Tabelle 2-7 dargestellt. Bei idealem Verhalten der Gase kann die Fluoreszenzlöschungskonstante für eine Stoffmischung auch nach

$$k_Q = \sum k_{Q,i} \cdot x_i \quad (2.58)$$

berechnet werden. Damit wird Gleichung 2.57 zu

$$\tau_{obs} = \frac{1}{k_F + k_Q \cdot p}. \quad (2.59)$$

Jetzt kann Gleichung 2.54 für ein fluoreszenzgelöschtes Signal umgeschrieben werden. Dabei gelten die Grenzen des beobachteten Zeitfensters. Für die hintere Begrenzung des Zeitfensters t_E kann in guter Näherung auch $t = \infty$ eingesetzt werden.

$$I_{obs} = \int_{t_A}^{\infty} I(t) dt = \frac{I_G}{\tau_{nat}} \cdot \int_{t_A}^{\infty} e^{\frac{-t}{\tau_{obs}}} dt = A_q \cdot p \cdot k_F \cdot \int_{t_A}^{\infty} e^{-t \cdot (k_F + k_Q \cdot p)} dt. \quad (2.60)$$

Durch Integration ergibt sich

$$I_{obs} = \frac{A_q \cdot p \cdot k_F}{k_F + k_Q \cdot p} \cdot e^{-t_A(k_F + k_Q \cdot p)}. \quad (2.61)$$

Damit ist die Druckabhängigkeit des Signals hinreichend beschrieben. Da die natürliche Lebensdauer sowie die Fluoreszenzlöschungskonstanten für alle Rotationsübergänge in der $\gamma(0,0)$ -Bande annähernd gleich sind, gilt dieser Zusammenhang für alle verwendeten Übergänge. Es soll nun theoretisch ermittelt werden, wie sich das Fluoreszenzsignal von bestimmten Gasmischungen in Abhängigkeit vom Druck verhält. Die hauptsächlich verwendeten Gasmischungen, deren Zusammensetzungen bekannt sind, sind Atemluft, Laborluft und eine NO/ N_2 Prüfgasmischung, die zu Kalibrierzwecken mit reinem Stickstoff vermischt wurde. Die jeweiligen Konzentrationen und die daraus resultierenden Fluoreszenzlöschungskonstanten sind in den Tabellen 2-8, 2-9 und 2-10 ersichtlich.

Wenn die Integration des Fluoreszenzsignals ohne Verzögerung begonnen wird, ist $t_A = 0$ und der e-Term wird 1, in diesem Fall strebt die Intensität bei steigendem Druck gegen einen

Tab. 2-7: Fluoreszenzlöschungskonstanten einiger Moleküle für $T=298\text{K}$. [43, 76]

Molekül	Fluoreszenzlöschungskonstante / $\text{mbar}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
N_2	2210 ± 630
O_2	$(3,94 \pm 0,12) \cdot 10^6$
CO_2	$(1,043 \pm 0,024) \cdot 10^7$
Ar	$< 4860 \pm 250$
H_2O	$(2,18 \pm 0,11) \cdot 10^7$
NO	$(6,66 \pm 0,19) \cdot 10^6$

Tab. 2-8: Zusammensetzung der Atemluft und Fluoreszenzlöschungskonstanten bezogen auf den relativen Anteil.

Molekül	Anteil	FL-Konstante · Anteil / $\text{mbar}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
N_2	73,5%	1630 ± 460
O_2	15,8%	$(6,22 \pm 0,19) \cdot 10^5$
CO_2	5,9%	$(6,15 \pm 0,14) \cdot 10^5$
Ar	0,5%	$24 \pm 1,2$
H_2O	3,0%(variabel)	$(6,54 \pm 0,33) \cdot 10^5$
NO	ca.15 ppb	$(6,65 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$
Sonstige	ca. 1,3%	—
Summe		$(1,90 \pm 0,07) \cdot 10^6$

Tab. 2-9: Zusammensetzung der Laborluft und Fluoreszenzlöschungskonstanten bezogen auf den relativen Anteil.

Molekül	Anteil	FL-Konstante · Anteil / $\text{mbar}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
N_2	77,9%	1720 ± 490
O_2	20,0%	$(7,87 \pm 0,24) \cdot 10^5$
H_2O	1,57% (bei 50% rel. LF)	$(3,42 \pm 0,17) \cdot 10^5$
CO_2	0,03%	3128 ± 71
Ar	0,5%	$24 \pm 1,2$
NO	ca.4 ppb	$(1,77 \pm 0,01) \cdot 10^{-3}$
Sonstige	$< 0,01\%$	—
Summe		$(1,14 \pm 0,04) \cdot 10^6$

Tab. 2-10: Zusammensetzung des Prüfgases und Fluoreszenzlöschungskonstanten bezogen auf den relativen Anteil.

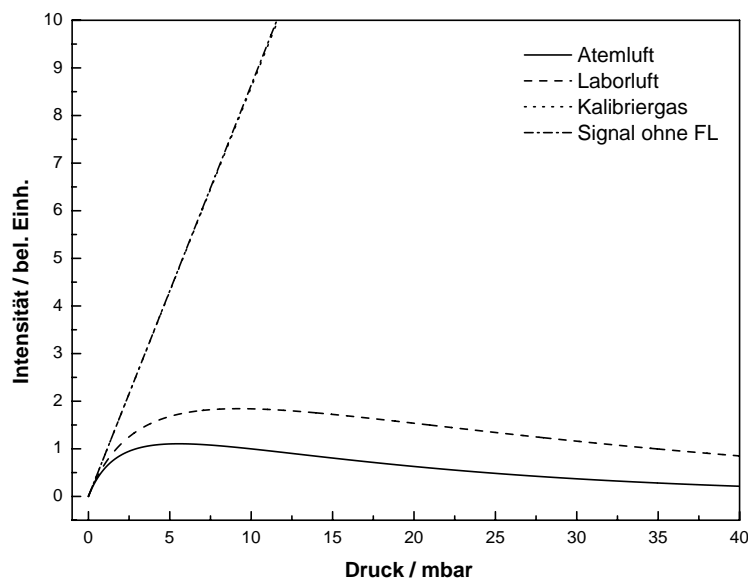
Molekül	Anteil	FL-Konstante · Anteil / $\text{mbar}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
N_2	99,9%	1720 ± 490
NO	ca.4 ppb	$(1,77 \pm 0,01) \cdot 10^{-3}$
Sonstige	$< 0,0001\%$	—
Summe		2210

Tab. 2-11: Für die Simulation der druckabhängigen Signalintensität benötigte Daten.

Konstante	Atemluft	Laborluft	Kalibriergas	Signal ohne FL
A_q	1	1	1	1
k_F / s^{-1}	$4,88 \cdot 10^6$	$4,88 \cdot 10^6$	$4,88 \cdot 10^6$	$4,88 \cdot 10^6$
$k_Q / mbar^{-1} \cdot s^{-1}$	$1,90 \cdot 10^6$	$1,14 \cdot 10^6$	2210	0
t_A / s	$30 \cdot 10^{-9}$	$30 \cdot 10^{-9}$	$30 \cdot 10^{-9}$	$30 \cdot 10^{-9}$

konstanten Wert. Es kann aber davon ausgegangen werden, dass eine Zeitverzögerung von $t_A \approx 30 \text{ ns}$ sinnvoll ist, weil der Laserpuls nach dieser Zeit sicher beendet ist. In diesem Fall durchläuft die Kurve ein Maximum, das das optimale Verhältnis der Signalintensität zum Druck darstellt. Die Kurvenverläufe sind für Atemluft, Laborluft, Kalibriergas und ein Signal ohne Fluoreszenzlöschung simuliert worden, um die Maxima zu bestimmen. Die für die Simulation notwendigen Daten sind in Tabelle 2-11 zusammengefasst. Die Konstante A wurde willkürlich auf 1 gesetzt, da ihr Wert die Lage des Maximums nicht verändert.

Die simulierten Kurven sind in Abbildung 2-25 zu sehen. Die maximale Intensität bzw. der Fluoreszenzlöschungsfaktor, der benötigt wird, um ein Signal ohne Fluoreszenzlöschung mit einem Signal mit Fluoreszenzlöschung zu vergleichen, ist in Tabelle 2-12 zusammengestellt. Dabei wird der Fluoreszenzlöschungsfaktor auf einen Druck von 12 mbar bezogen. Dies ist vor allem den praktischen Ergebnissen zuzuschreiben, die in Abschnitt 4.1.2.1 ausführlich diskutiert werden.

**Abb. 2-25:** Simulation der Druckabhängigkeit der Signalintensität.

Bis jetzt wurde die Stoßdeaktivierung nur für den Fall behandelt, dass die Anregung momentan geschieht. Dies ist jedoch in der Praxis nicht realisierbar, da der Laserpuls eine Dauer von

Tab. 2-12: Theoretische Signalabschwächung durch Fluoreszenzlöschung bei verschiedenen Gasmischungen.

Gasmischung	max. Signalintens. / mbar	FL-Faktor bei 12 mbar
Atemluft	5,55	0,089
Laborluft	9,25	0,175
Kalibriergas	4771,48	0,993
Signal ohne FL	-	1

ca. 30 ns hat. Um die auftretende Fluoreszenz theoretisch so behandeln zu können, wie sie praktisch auftritt, muss die Fluoreszenzintensität auf die zeitabhängige Anregung bezogen werden. Dabei wird davon ausgegangen, dass die zeitliche Intensitätsverteilung des Laserpulses einem Gaußprofil $G(t)$ entspricht. Die Fluoreszenzintensität $I(t)$ und das Anregungsprofil $G(t)$ müssen gefaltet werden gemäß:

$$F(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(t') \cdot G(t - t') dt'. \quad (2.62)$$

Die beiden Funktionen $I(t)$ und $G(t)$ sind definiert nach:

$$I(t) \propto h(t) \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (2.63)$$

$$G(t) \propto e^{-\frac{(t-t_0)^2}{2 \cdot w^2}} \quad (2.64)$$

Dabei ist w die zeitliche Halbwertsbreite des Laserpulses und τ die Lebensdauer. Da der Zeitpunkt $t = 0$ im Experiment den Zeitpunkt beschreibt, an dem der Laserpuls seine maximale Intensität hat, muss $F(t)$ auch vor diesem Zeitpunkt bestimmt werden. Zu diesem Zweck wird eine Sprungfunktion auf die Abklingkurve angewendet. Die Sprungfunktion lautet:

$$h(t - t') = \begin{cases} 1 & \text{für } t \geq t' \\ 0 & \text{für } t < t' \end{cases} \quad (2.65)$$

Damit wird Gleichung 2.62 zu:

$$F(t) = C_f \cdot \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-\frac{t-t'}{\tau}} \cdot e^{-\frac{(t'-t_0)^2}{2 \cdot w^2}} \cdot h(t - t') dt'. \quad (2.66)$$

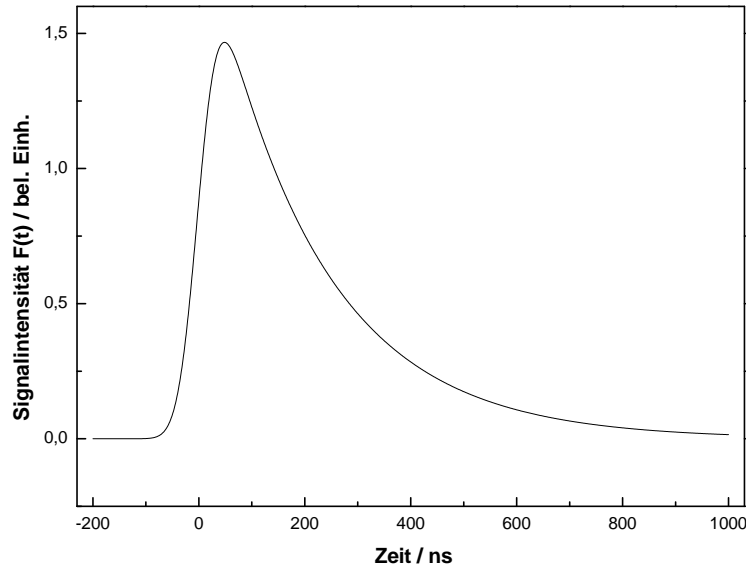


Abb. 2-26: Die zu erwartende Abklingkurve der Fluoreszenz.

Dabei ist C_f die Proportionalitätskonstante, die sich aus den Proportionalitätskonstanten der Gleichungen 2.63 bis 2.65 zusammensetzt. Durch das Zusammenfassen des Exponentialterms, Integration und anschließende Vereinfachung ergibt sich:

$$F(t) = C_f \cdot \frac{\sqrt{2 \cdot \pi} \cdot w}{2} \cdot e^{\frac{2 \cdot w^2 + 4 \cdot \tau \cdot t_0 - 4 \cdot \tau \cdot t}{4 \cdot \tau^2}} \cdot \left| \operatorname{erf} \left[\frac{t' - t_0}{\sqrt{2} \cdot w} - \frac{\sqrt{2} \cdot w}{2\tau} \right] \right|_{-\infty}^{+\infty}. \quad (2.67)$$

Alle Konstanten können unter A_f zusammengefasst werden. Dies führt zu:

$$F(t) = A_f \cdot e^{\frac{-(t-t_0)}{\tau}} \cdot \left(1 - \operatorname{erf} \left[\frac{w^2 - \tau \cdot (t - t_0)}{\sqrt{2} \cdot \tau \cdot w} \right] \right). \quad (2.68)$$

Diese Funktion entspricht dem Signal, das tatsächlich im Experiment beobachtet wird. Der Verlauf von $F(t)$ ist in Abbildung 2-26 dargestellt.

2.5 Streulicht

Das durch Rayleigh-Streuung gestreute Laserlicht wird im gleichem Maße von der Detektionsoptik erfasst und auf den Photomultiplier fokussiert wie das Fluoreszenzlicht. Es verschlechtert das Signal-zu-Rausch-Verhältnis. Um das Streulicht zu minimieren, wird ein Interferenzfilter verwendet, der das Streulicht absorbiert. Es soll nun abgeschätzt werden, wieviel

Streulicht im Vergleich zur Fluoreszenz entsteht und wieviel Streulicht letztlich am Detektor ankommt.

Es kann näherungsweise davon ausgegangen werden, dass hauptsächlich Stickstoff für das Streulicht verantwortlich ist, da dessen Konzentration mit Abstand am höchsten ist. Es wird also im Folgenden nur Stickstoff betrachtet und so gerechnet, als sei in der Zelle nur Stickstoff anwesend. In diesem Fall würde die größte Streulicht-Intensität erreicht werden. Der Streuquerschnitt σ_{N_2} von Stickstoff kann mit der Gleichung

$$\sigma_{N_2} \approx \frac{\omega^4 \cdot V_N^2}{6 \cdot \pi \cdot c^4} \quad (2.69)$$

abgeschätzt werden. Dabei ist ω die Kreisfrequenz des Anregungslasers, V das Volumen des N_2 -Moleküls und c die Lichtgeschwindigkeit. Die Kreisfrequenz kann über den Zusammenhang

$$\omega = \frac{2 \cdot \pi \cdot c}{\lambda} \quad (2.70)$$

aus der Anregungswellenlänge berechnet werden. Für eine Wellenlänge $\lambda = 226,38 \text{ nm}$ ergibt sich eine Kreisfrequenz von $\omega = 8,33 \cdot 10^{15} \text{ s}^{-1}$. Das Volumen des Stickstoff-Moleküls wird näherungsweise aus dem Radius eines Stickstoff-Atoms berechnet. Mit einem Radius von $54,9 \text{ pm}$ beträgt das Volumen des Stickstoff-Moleküls ungefähr $1,39 \cdot 10^{-30} \text{ m}^3$. [77] Somit ist der Stoßquerschnitt σ von N_2 etwa $6,09 \cdot 10^{-28} \text{ cm}^2$. Nun kann mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes der Anteil des Lichts berechnet werden, der durch die mit Stickstoff gefüllte Zelle durchdringt bzw. wieviel Licht absorbiert wird:

$$I_t = I_0 \cdot e^{-n \cdot \sigma \cdot l}. \quad (2.71)$$

Die Intensität des transmittierten Lichts I_t ist also abhängig von der Intensität des einstrahlten Lichts I_0 , der Teilchenzahl im durchstrahlten Raum n , dem Absorptionsquerschnitt bzw. Streuquerschnitt σ und der Länge des durchstrahlten Raums l . Damit ergibt sich die Intensität des gestreuten Lichts zu

$$I_{Str} = I_0 - I_t(N_2). \quad (2.72)$$

Als Intensität wird hier die Energie pro Fläche verwendet, die nach

$$I_0 = \frac{4 \cdot E_L}{\pi \cdot d^2} \quad (2.73)$$

berechnet werden kann. Mit einer Pulsenergie $E_L = 500 \mu J$ und einem Durchmesser $d = 3 \text{ mm}$ ergibt sich eine Ausgangsintensität von $I_0 = 70,7 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$. Damit ist die Intensität des Streulichts $I_{Str} = 4,37 \cdot 10^{-7} \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$. Diese Intensität wird durch die Sammellinse, Reflexionsverluste an den Optiken, der Quantenausbeute des Photomultipliers und besonders durch den Interferenzfilter geschwächt. Der Filter hat bei der gegebenen Wellenlänge eine Transparenz von etwa 0,3 %. Die Faktoren ergeben sich also wie folgt (siehe Abschnitt 2.2.3):

Sammellinse	$f_{opt}=0,067$
Reflexionsverluste	$f_{ref}=0,6$
Interferenzfilter	$f_{fil}=0,003$
Quantenausbeute	$f_q=0,3$
elektronische Detektionseffizienz	$f_{el}=1$

Damit ergibt sich eine detektierte Streulichtintensität von $1,6 \cdot 10^{-11} \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$. Diese Intensität ist praktisch bei allen Messungen als Untergrund vorhanden.

Nun soll im Vergleich dazu die Fluoreszenzintensität abgeschätzt werden. Während in Abschnitt 2.2.3 die minimale Teilchenanzahl berechnet wurde, die in der Zelle gerade noch messbar ist, geht es hier um die Strahlungsintensität der Fluoreszenz einer normalen Kalibriermischung (25 ppb). Die transmittierte Laserintensität errechnet sich analog zu Gleichung 2.71, allerdings muss hier die Teilchendichte noch mit der Population des beobachteten Übergangs sowie der Anregungseffizienz E_A korrigiert werden. Dann ergibt sich die Intensität des Fluoreszenzlichts zu $I_F = 1,89 \cdot 10^{-5} \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$. Diese muss, wie zuvor die Streulichtintensität, mit den Faktoren der Optik, der Reflexion und des Filters multipliziert werden. Außerdem muss der Franck-Condon-Faktor mit einbezogen werden, genau so wie der Faktor f_f als Maß für die Fluoreszenzfähigkeit (siehe Abschnitt 2.2.3, in diesem Fall (Kalibriergas) kann in guter Näherung vom Signal ohne Fluoreszenzlöschung ausgegangen werden). Insgesamt beläuft sich damit die Intensität des Streulichts auf $2,7 \cdot 10^{-8} \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$. Damit ist das theoretische Verhältnis des Signals zum Streulicht 1688 : 1. Bei einer Atemluftprobe mit 40ppt ^{15}NO verschlechtert sich dieses Verhältnis zu 1 : 2, es wird also doppelt so viel Streulicht detektiert wie Fluoreszenzlicht. Hier kann es nützlich sein, das Signal durch Mittelung zu verbessern.

2.6 Laserlinienbreite

Die im Spektrum auftretende Linienbreite ist von verschiedenen Faktoren abhängig, die nun im einzelnen diskutiert werden sollen. Die Linienbreite ist für das Experiment wichtig, weil eine zu hohe Linienbreite eine zunehmende Überschneidungen der Linien bewirkt, was schließlich dazu führt, dass die ^{15}NO -Linien vollständig von den ^{14}NO -Linien überdeckt werden. Ab einer gewissen Linienbreite ist also nur noch ^{14}NO detektierbar.

Die sogenannte Lebensdauer-Verbreiterung begründet sich auf der Heisenbergschen Unschärferelation. Demnach sind die Energieniveaus nicht unendlich schmal sondern haben eine natürliche Breite, damit ergibt sich eine Linienverbreiterung $\Delta\nu_l$ von

$$\Delta\nu_l = \frac{\Delta E_i + \Delta E_j}{h}. \quad (2.74)$$

Dabei sind ΔE_i und ΔE_j die Unschärfen der beteiligten Energieniveaus und h die Planck-Konstante. Die Unschärfen der Energieniveaus sind abhängig von der Absorption, dem Grad der Fluoreszenzlöschung, der stoßinduzierten Anregung, der spontanen Emission und der induzierten Emission. Unter normalen Bedingungen kann davon ausgegangen werden, dass die Stoßaktivierung, die Stoßdesaktivierung, die Absorption und die stimulierte Absorption klein gegenüber der spontanen Emission sind, Gleichung 2.74 vereinfacht sich dadurch näherungsweise zu

$$\Delta\nu_N = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot \tau} = \frac{A_{21}}{2 \cdot \pi}. \quad (2.75)$$

Im Allgemeinen wird $\Delta\nu_N$ als die natürliche Linienverbreiterung bezeichnet. Bei einer natürlichen Lebensdauer von $\tau_{nat} = 205 \text{ ns}$ ist die natürliche Halbwertsbreite der Übergänge $\Delta\nu_N = 7,7 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$. [71] Eine weitere Linienverbreiterung tritt durch Kollisionen auf, da durch die Fluoreszenzlöschung die Lebensdauer verkürzt wird (vergleiche auch Abschnitt 2.4). Die Kollisionsverbreiterung¹² $\Delta\nu_C$ kann formuliert werden als

$$\Delta\nu_C = \frac{k}{2 \cdot \pi} = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot \tau_{obs}}. \quad (2.76)$$

Mit der errechneten Lebensdauer τ_{obs} für Atemluft von $3,62 \cdot 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ lässt sich $\Delta\nu_C$ zu $4,4 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ berechnen.

¹²Die Kollisionsverbreiterung wird teilweise auch als Druckverbreiterung bezeichnet.

Die Bewegung der Teilchen in der Zelle führt zur Doppler-Verbreiterung, die nach

$$\Delta\nu_D = 2 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot \ln 2 \cdot k \cdot T}{m} \frac{\nu_m}{c}} \quad (2.77)$$

gegeben ist. Dabei ist k die Boltzmann-Konstante, T die Temperatur, m die Molekülmasse, ν_m die Frequenz der Anregungswellenlänge und c die Lichtgeschwindigkeit. Bei der Anregungsfrequenz $\nu_m = 1,33 \cdot 10^{15} \text{ s}^{-1}$ und einer Temperatur von 298 K ergibt sich für ^{14}NO eine Doppler-Verbreiterung von $\Delta\nu_D = 3,0 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$.

Die letzte Linienverbreiterung, die in diesem Experiment eine Rolle spielt, ist die spektrale Breite des Laserstrahls. Aufgrund des Zusammenhangs der spektralen Breite und der Zeitverteilung durch die Heisenbergsche Unschärferelation kann ein Laserstrahl nicht unendlich schmalbandig sein, solange er von endlicher Dauer ist. In der Praxis ist die Schmalbandigkeit dazu auch noch stark von der Justierung abhängig (siehe Abschnitt 3.1). Die Halbwertsbreite des verwendeten Farbstofflasers ist vom Hersteller mit $\Delta\nu_L = 6 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$ angegeben. Es ist deutlich zu sehen, dass die Linienverbreiterung in der Reihenfolge $\Delta\nu_N < \Delta\nu_C < \Delta\nu_D < \Delta\nu_L$ zunimmt. Um die resultierende Linienverbreiterung zu berechnen, müssen die vier Linienverbreiterungen miteinander ins Verhältnis gesetzt werden. Der Ausdruck

$$\Delta\nu_{obs} = \sqrt{\Delta\nu_N^2 + \Delta\nu_C^2 + \Delta\nu_D^2 + \Delta\nu_L^2} \quad (2.78)$$

beschreibt die Abhängigkeit der observierten Linienbreite von den Linienverbreiterungen. Streng genommen gilt dieser Ausdruck nur dann, wenn alle Terme einer Gaußverteilung gleichen. Dies ist zwar nicht der Fall, aber in guter Näherung kann Gleichung 2.78 zur Berechnung der Laserbandbreite verwendet werden. Mit den oben angegebenen Linienverbreiterungen ergibt sich eine beobachtete Linienbreite $\Delta\nu_{obs} = 6,7 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die durch die Laserbandbreite hervorgerufene Linienverbreiterung die entscheidende ist. Im Experiment kann nur die observierte Linienbreite bestimmt werden. Da aber die einzige Unbekannte die Laserbandbreite ist, kann die Laserbandbreite berechnet werden, was in Abschnitt 4.1.4 getan wird. Theoretisch muss die observierte Linienbreite unterhalb von $3 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1}$ liegen, um alle drei ^{15}NO -Linien im Spektrum auflösen zu können, ist die observierte Linienbreite höher, werden die ^{15}NO -Linien von den ^{14}NO -Linien überdeckt.¹³

¹³Die tatsächliche maximale Laserbandbreite ist kleiner, da die errechneten Daten nur für den Extremfall gelten, bei dem das Signal nicht verrauscht ist. Oftmals werden die Bandbreiten in Wellenzahlen angegeben. Die theoretische, maximale Laserbandbreite entspricht $0,995 \text{ cm}^{-1}$, um alle drei Linien gerade noch auflösen zu können.

2.7 Spurengase in der Atemluft und etwaige Querempfindlichkeiten

In der Einleitung wurde LIF als sehr selektiv beschrieben. Es wurde auch schon dargelegt, warum NO isotopenselektiv nachgewiesen werden kann. Nun soll die generelle Selektivität des Experiments besprochen werden, dabei liegt das Hauptaugenmerk wieder einmal auf der Atemluft. Neben den in Tabelle 2-8 aufgeführten Bestandteilen der Atemluft gibt es noch zahlreiche Inhaltsstoffe, die aber wegen ihrer geringen Konzentrationen für die Fluoreszenzlöschung keine Rolle spielen. Für das Experiment an sich könnten sie jedoch eine Rolle spielen, wenn sie

1. mit NO reagieren und so die Anzahl der vorhandenen NO-Moleküle verringern
2. mit anderen Stoffen zu NO reagieren und so die Anzahl der vorhandenen NO-Moleküle erhöhen¹⁴
3. die Anregungswellenlänge absorbieren
4. die Fluoreszenz absorbieren
5. bei der detektierten Fluoreszenzwellenlänge emittieren

Zu Punkt 1: Reaktionen mit NO sind sehr wahrscheinlich, da NO als Radikal vor allem mit oxidierenden Substanzen chemische Bindungen eingeht. Allerdings muss diese Wahrscheinlichkeit mit der geringen Konzentration von NO und der teilweise geringen Konzentration der potentiellen Reaktionspartner relativiert werden. Zusätzlich muss die Kinetik einer solchen Reaktion betrachtet werden. Als Beispiele für die Wahrscheinlichkeit von Reaktionen sollen die Reaktionen

1. $NO + O_3 \leftrightarrow NO_2 + O_2$ $k_1 = 1,2 \cdot 10^7 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $\Delta G = -198,51 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ [44, 78, 79]
2. $2NO + O_2 \leftrightarrow 2NO_2$, $k_2 = 7,3 \cdot 10^3 \text{ l}^2 \cdot \text{mol}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $\Delta G = -70,71 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ [43, 44]

näher betrachtet werden. An den Gibbschen freien Enthalpien bzw. den Geschwindigkeitskonstanten ist abzulesen, dass beide Reaktionen spontan und schnell ablaufen. Allerdings ist die Geschwindigkeitskonstante abhängig von der Anzahl der stattfindenden Stöße, also von der Konzentration der Reaktanden. Entscheidend für das Experiment ist, ob sich die Anzahl der NO-Moleküle während des Experiments signifikant verringert. Dazu muss zunächst die

¹⁴Adsorption und Desorption sind ebenfalls in Punkt 1 und 2 enthalten, ebenso wie Komplexbildungsreaktionen.

Geschwindigkeitsgleichung aufgestellt werden. Reaktion 1 ist eine bimolekulare Reaktion der Form

$$\frac{d[NO]}{dt} = -k_1 \cdot [NO] \cdot [O_3]. \quad (2.79)$$

Da die Anfangskonzentrationen $[NO]_0$ und $[O_3]_0$ nicht gleich sind, kann die Gleichung am besten über den Umsatz x gelöst werden. Für den Umsatz gilt:

$$[NO] = [NO]_0 - x \quad (2.80)$$

und

$$[O_3] = [O_3]_0 - x. \quad (2.81)$$

Nach Einsetzen in Gleichung 2.79, Trennung der Variablen, Integration und Auflösung nach x heißt die Lösung:

$$x = [NO]_0 \cdot [O_3]_0 \cdot \frac{e^{([O_3]_0 - [NO]_0) \cdot k_1 \cdot t} - 1}{[O_3]_0 \cdot e^{([O_3]_0 - [NO]_0) \cdot k_1 \cdot t} - [NO]_0}. \quad (2.82)$$

Mit den ungefähren Konzentrationen in der Atemluft $[NO]_0 \approx 10ppb$ und $[O_3]_0 \approx 100ppb$ ¹⁵ ergibt sich eine Halbwertszeit der NO-Konzentration von etwa 4 Stunden¹⁶. Da die Zeitskala des Experiments wesentlich geringer ist, kann davon ausgegangen werden, dass die NO-Konzentration selbst bei Smog nicht relevant durch eine Reaktion mit Ozon abnimmt. Zur besseren Übersicht ist der zeitabhängige Verlauf des Umsatzes in Abbildung 2-27 dargestellt.

Die zweite Reaktion ist eine trimolekulare Reaktion nach dem Mechanismus:

$$\frac{d[NO]}{dt} = -k_2 \cdot [NO]^2 \cdot [O_2]. \quad (2.83)$$

¹⁵Der Ozongehalt der Umgebungsluft und damit auch der Atemluft ist sehr stark an die äußeren Gegebenheiten angelehnt. Für diese Berechnung wurde die von US-Amerikanischen Arbeitssicherheitsbehörde (OSHA) festgelegte maximal zulässige Arbeitsplatzkonzentration für einen 8-Stunden-Tag gewählt. Die normalerweise in der Atemluft vorkommenden Ozon-Konzentrationen dürften weitaus geringer sein.[80]

¹⁶Dieser Wert gilt bei Umgebungsdruck. In der Zelle herrschen 12 mbar und die Halbwertszeit ist dann noch höher.

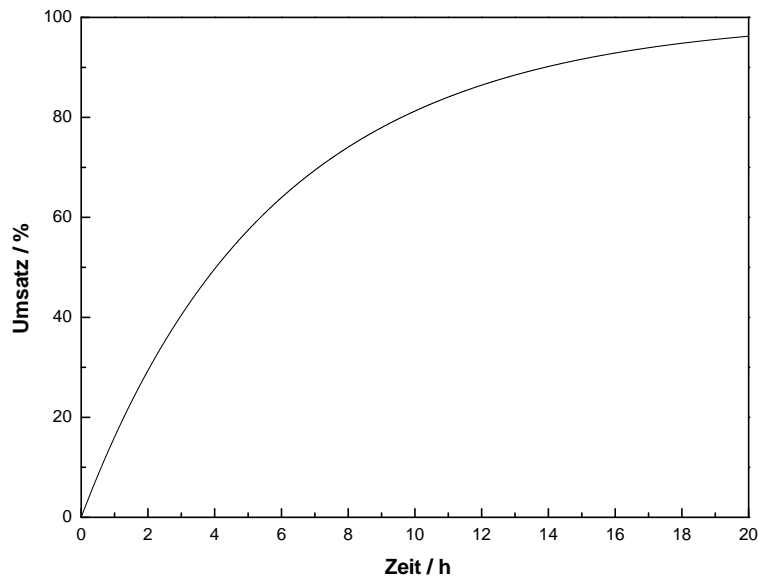


Abb. 2-27: Die bei der Reaktion $\text{NO} + \text{O}_3 \rightarrow \text{NO}_2 + \text{O}_2$ umgesetzte Menge an NO, bezogen auf die Ausgangskonzentration.

Es wird der gleiche Ansatz wie bei der bimolekularen Reaktion verwendet, was in diesem Fall zu folgendem Ausdruck führt:

$$t = \frac{2 \cdot x}{([NO]_0 - 2[O_2]_0) \cdot ([NO]_0 - 2 \cdot x) \cdot (-k \cdot [NO]_0)} + \frac{\ln\left(\frac{2 \cdot x \cdot [O_2]_0 - [NO]_0 \cdot [O_2]_0}{x \cdot [NO]_0 - [NO]_0 \cdot [O_2]_0}\right)}{k \cdot ([NO]_0 - 2 \cdot [O_2]_0)^2}. \quad (2.84)$$

Diese Gleichung kann nicht explizit nach x aufgelöst werden, es wird daher die Zeit in Abhängigkeit des Umsatzes betrachtet. Die Halbwertszeit von NO ist bei dieser Reaktion $8 \cdot 10^5$ Jahre. Es findet also, trotz der relativ hohen Konzentration von Sauerstoff, fast keine Reaktion statt. Der zeitabhängige Umsatz ist in Abbildung 2-28 dargestellt.

An den beiden Beispielreaktionen konnte gezeigt werden, dass Reaktionen von NO mit Bestandteilen der zu vermessenden Gasmischungen keinen signifikanten Einfluss haben. Das liegt hauptsächlich an der sehr geringen Konzentration von NO selbst, aber auch an den geringen Konzentrationen der Reaktionspartner.

Zu Punkt 2: Theoretisch kann NO in der Zelle gebildet werden. Dies würde zu einer Erhöhung der Signalintensität führen und die Messungen verfälschen. Die Vereinigung der Elemente kann ausgeschlossen werden, da sie nur bei hohen Temperaturen ($> 3000 \text{ K}$) im Lichtbogen erfolgt und selbst dann sind die Ausbeuten eher schlecht. Die Energie des Laserstrahls reicht nicht aus, um die Reaktion zu ermöglichen. Dabei sind es nicht nur chemische Reaktionen, sondern auch durch den Laser ausgelöste photochemische Prozesse, die NO produzieren.

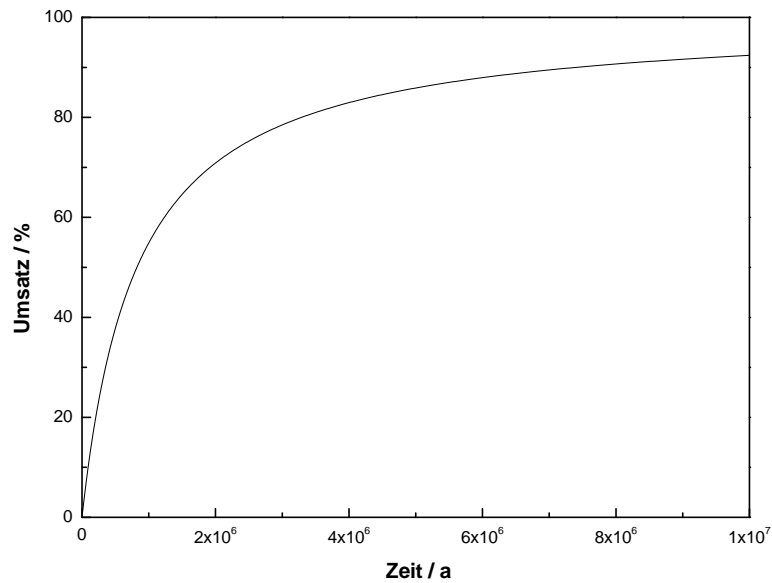


Abb. 2-28: Die bei der Reaktion $2NO + O_2 \rightarrow 2NO_2$ umgesetzte Menge an NO, bezogen auf die Ausgangskonzentration.

Stickstoffdioxid kann beispielsweise durch UV-Licht in NO und molekularen Sauerstoff gespalten werden, der sehr reaktiv ist und mit Sauerstoff zu Ozon reagieren kann. Die Grenze für die Photodissoziation liegt bei 398 nm [81, 82], die verwendete Wellenlänge reicht also aus, um die Photoreaktion einzuleiten. Dabei hat NO_2 einen relativ hohen Absorptionsquerschnitt $\sigma = 4,6 \cdot 10^{-19} \text{ cm}^2$ und eine Quantenausbeute nahe 1 [83–86]. Das zugrundeliegende Absorptionsspektrum von NO_2 ist in Abbildung 2-29 dargestellt. Um abschätzen zu können, wieviel NO durch die Reaktion



pro Laserpuls gebildet wird, muss wieder das Lambert-Beersche Gesetz benutzt werden, in diesem Fall in der Form

$$N_t = N_0 \cdot e^{-\sigma \cdot n \cdot l}. \quad (2.85)$$

Dabei spiegeln N_0 bzw. N_t die ursprüngliche bzw. transmittierte Anzahl der Photonen pro Laserpuls wider. Die absorbierte Anzahl der Photonen ist dann

$$N_{abs} = N_0 \cdot (1 - e^{-\sigma \cdot n \cdot l}). \quad (2.86)$$

Da die Quantenausbeute der Dissoziation annähernd 1 ist, kann davon ausgegangen werden, dass jedes Photon, das vom NO_2 absorbiert wird, die oben genannte Reaktion auslöst und

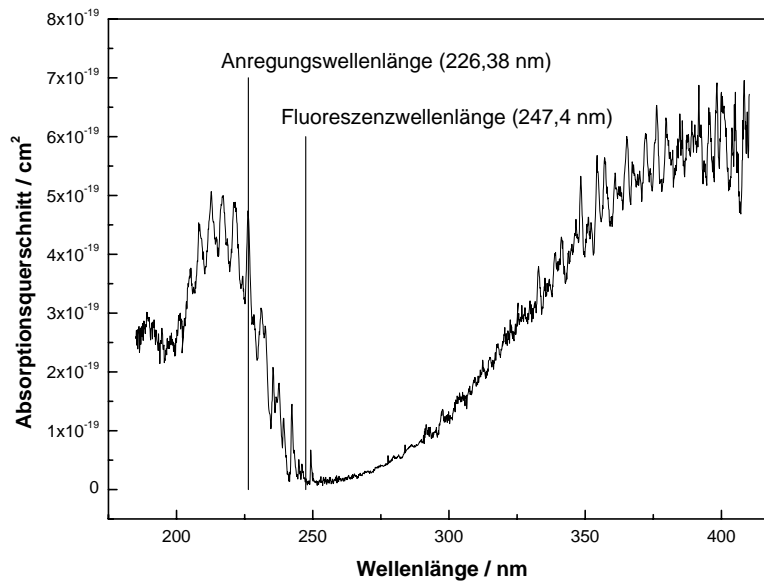


Abb. 2-29: Das Absorptionsspektrum von NO_2 bei 298 K.[86]

damit für jedes absorbierte Photon ein NO-Molekül entsteht. Mit dieser Annahme kann die absolute Anzahl der pro Laserpuls dissoziierenden NO_2 Moleküle sowie der Anteil der entstehenden NO-Moleküle berechnet werden. Ein Laserpuls beinhaltet etwa $5,69 \cdot 10^{14}$ Photonen. Mit der Zellenlänge von etwa 35 cm und einer NO_2 Teilchendichte von $1,46 \cdot 10^{11} \text{ cm}^{-3}$ ergibt sich eine absorbierte Photonenmenge von $N_{\text{abs}} = 1,3 \cdot 10^9$ Photonen. Es werden also $1,3 \cdot 10^9$ NO_2 -Moleküle dissoziiert bzw. $1,3 \cdot 10^9$ NO-Moleküle generiert. Auf die im Laservolumen¹⁷ vorhandene Anzahl NO_2 Moleküle bezogen bedeutet das eine Dissoziationsrate von etwa 0,4 %. Bei einer Konzentration von etwa 10 ppb befinden sich ungefähr $9 \cdot 10^{12}$ NO-Moleküle im Zellenvolumen¹⁸, das heißt, pro Puls wird die in der Zelle vorhandene Anzahl an NO Molekülen um 0,01 % erhöht. Selbst bei längeren Messreihen sollte sich die NO Konzentration also nicht merklich ändern. Hinzu kommt, dass durch das Messen im Durchfluss eine merkbare Aufkonzentration unterbunden wird. Andere Reaktionen, die die Anzahl der NO-Moleküle in der Zelle erhöhen, sind noch unwahrscheinlicher als die hier besprochenen, da entweder die Edukte in zu kleinen Konzentrationen vorliegen oder die Reaktionen thermodynamisch oder kinetisch gehemmt sind.

Zu Punkt 3: Teilchen, die die Anregungswellenlänge absorbieren, spielen während des Experiments praktisch keine Rolle. Da die Länge der Zelle konstant ist, ist die Absorbanz einer

¹⁷Das Laservolumen ist das in der Zelle durchstrahlte Volumen mit einer Länge von 0,35 m und einem Durchmesser von 0,003 m. Bei einer ungefähren Konzentration von 0,5 ppm NO_2 sind im Laservolumen $3,6 \cdot 10^{11}$ NO_2 -Moleküle enthalten

¹⁸Dies entspricht einem NO-Gehalt von 10 ppb in einem Zellenvolumen von 3 Litern.

Spezies nur von dem Absorptionsquerschnitt und der Konzentration abhängig. Die Absorptionsquerschnitte der Spezies, die in relativ hohen Konzentrationen vorkommen, sind relativ klein. Die Spurengase kommen in so geringen Konzentrationen vor, dass der Absorptionsquerschnitt praktisch keine Rolle spielt. Die Absorptionen sind zu vernachlässigen. Exemplarisch soll hier wieder die Absorption von NO_2 betrachtet werden. Entscheidend ist, ob die Absorption den Laserstrahl so abschwächt, dass zwischen einem Kalibriergas, das kein NO_2 enthält, und Atemluft, die etwa 0,5 ppm NO_2 enthält, ein signifikanter Unterschied auftritt, der sich negativ auf die Quantifizierung der Atemluft auswirkt. Durch das Einsetzen aller Parameter aus Punkt 3 in Gleichung 2.85 ergibt sich, dass der Laserstrahl bei Anwesenheit von 0,5 ppm NO_2 um den Faktor $2 \cdot 10^{-12}$ abgeschwächt wird, was vernachlässigbar klein ist. Selbst eine Änderung der Konzentration während der Messung wird also keinen sichtbaren Einfluss auf die Messergebnisse haben.

Zu Punkt 4: In dem Moment, wo die Fluoreszenz absorbiert wird, wird die Messung entscheidend gestört, weil einerseits das Signal-zu-Rausch-Verhältnis verschlechtert wird und zweitens die Signalstärke unter Umständen unvergleichbar in Bezug auf Kalibrierungen werden kann. Speziell geht es nur um den detektierten Übergang $A(v' = 0) \rightarrow X(v'' = 2)$ bei 247,4 nm. Da auch hier die hochkonzentrierten Bestandteile der Atemluft sehr kleine Absorptionsquerschnitte aufweisen, soll wieder die Signalschwächung durch NO_2 diskutiert werden. Dabei ist die Weglänge die Strecke zwischen dem Laservolumen und der Linse $l \approx 5\text{cm}$, der Absorptionsquerschnitt $\sigma_{\text{NO}_2} = 1,5 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$ [86] und die Intensität des Fluoreszenzlichts $I_F = 7,6 \cdot 10^{-6} \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$. Mit der Teilchendichte von NO_2 in der Atemluft (siehe oben) ergibt sich eine Verringerung der Fluoreszenzintensität um den Faktor $1,1 \cdot 10^{-8}$. Es kann also davon ausgegangen werden, dass Absorptionen der Fluoreszenzwellenlänge sowohl quantitativ als auch qualitativ keine Rolle spielen.

Zu Punkt 5: Der verwendete Interferenzfilter hat eine Durchlässigkeit von 16,6 % bei der zentralen Wellenlänge von 250,964 nm. Die Halbwertsbreite beträgt ungefähr 10,972 nm. Licht, dass von der Sammellinse erfasst wird, passiert den Filter mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit, abhängig von der Wellenlänge. Das Licht, was der Filter transmittiert, wird detektiert. Eine weitere Trennung zwischen Fluoreszenzlicht, Streulicht, Umgebungslicht und sonstigen Lichtquellen erfolgt durch die zweite Linse und das Pinhole. Licht, dass nicht direkt durch das Detektionsvolumen in Richtung Sammellinse fällt, wird sehr wahrscheinlich vor dem Detektor von den Wänden oder dem Pinhole absorbiert. Es gibt verschiedene Szenarien, die dazu führen können, dass Licht, welches weder Fluoreszenzlicht noch Streulicht darstellt, detektiert wird. Eine Lichtquelle stellt das Umgebungslicht dar, dass aus Sonnenlicht und künstlichem Licht bestehen kann. Allerdings wird der UV-Anteil des Umgebungslichts stark geschwächt, da es jeweils handelsübliches Glas passieren muss, bevor es in die Zelle gelangen

kann. Trotzdem wurde bei den Messungen darauf geachtet, das Umgebungslicht möglichst gering zu halten. So wurde das Labor durch Jalousien abgedunkelt und nur mit einer 60 Watt Glühbirne beleuchtet, die von der Zelle weggerichtet war. Eine zusätzliche Beleuchtung stellte die Beleuchtung der Meßgeräte und des Computers dar, diese sind jedoch zu vernachlässigen. Umgebungslicht als Quelle für Signalverfälschung kann also vernachlässigt werden. Daher ist die einzige Möglichkeit, ungewollt Licht mit dem Photomultiplier zu detektieren die, dass Licht in der Zelle entsteht. Dies kann Fluoreszenz, Phosphoreszenz oder Raman-Streuung von anderen Molekülen sein. Phosphoreszenz spielt aufgrund des gewählten Zeitfensters keine Rolle. Fluoreszenz ist unwahrscheinlich, denn das fluoreszierende Molekül müsste dem NO energetisch sehr ähnlich sein, um bei der gleichen Wellenlänge zu absorbieren und zu fluoreszieren. Dazu kommt, dass die Fluoreszenz bei diskreten Übergängen auftaucht. Es würden also nicht zuordnungsbare Linien im Spektrum auftauchen oder NO-Linien würden sich merklich vergrößern. Da dies nicht der Fall ist, kann auch die Fluoreszenz vernachlässigt werden. Die Stokes-Linien der Raman-Streuung könnten detektiert werden, allerdings ist die Raman-Streuung klein im Vergleich zur Rayleigh-Streuung und außerdem kann das Streulicht durch die Wahl eines geeigneten Zeitfensters minimiert werden, da die Raman- bzw. Rayleigh-Streuung nur zeitgleich mit dem Laserpuls auftritt.

Damit konnte dargelegt werden, dass das Experiment von Spurengasen nicht signifikant gestört werden kann. Neben der in Tabelle 2-8 angegebenen Zusammensetzung der Luft gibt es mehr als 200 anorganische und organische Inhaltsstoffe, die wegen ihrer geringen Konzentration als Spurengase bezeichnet werden.[87, 88] Dabei muss beachtet werden, dass die Luft, die ein Mensch einatmet, auch diese Spurengase enthält. Die Konzentrationen der Spurengase der Umgebungsluft sind sehr stark abhängig von den äußeren Gegebenheiten (urbane Regionen unterscheiden sich stark von ländlichen Regionen). SCHUBERT *et al.* konnten zeigen, dass einige Spurengase absorbiert werden, während andere generiert werden.[89] Auch PHILIPS *et al.* bestätigen dies und geben die Anzahl der in der Atemluft detektierten VOCs mit über 1200 an.[90] Beim Verbrauch von Gasen kann es sich ebenso um spontane chemische Reaktionen handeln, als auch um Adsorption oder ein gezieltes Herausfiltern von Stoffen, um sie dem Körper zuzuführen. Für diese Arbeit sind die Spurengase nicht zwingend wichtig, es wurden trotzdem einige von ihnen aufgelistet, um einen Überblick zu vermitteln. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2-13 dargestellt. Die angegebenen Konzentrationen sind nur ein Richtwert und können in Einzelfällen sowie bei hoher Belastung der Umgebungsluft stark abweichen.

Tab. 2-13: Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]

Substanz	Summenformel	ungefähre Konzentration
Acetaldehyd	C_2H_4O	3 - 7 ppb
Aceton	C_3H_6O	0 - 1 ppm
Acetonitril	C_2H_3N	-
Acetylen	C_2H_2	-
Allylacetat	$C_5H_8O_2$	-
Ammoniak	NH_3	0 - 1 ppm
Argon	Ar	0,5 %
Benzol	C_6H_6	-
Benzylamin	C_7H_9N	-
1-Butanol	$C_4H_{10}O$	-
2-Butanon	C_4H_8O	6 - 26 ppb
1-Buten	C_4H_8	63 ppb
Caprylalkohol	$C_8H_{18}O$	-
1-Chlorhexan	$C_6H_{13}Cl$	-
Chloroform	$CHCl_3$	-
Coumarin	$C_9H_6O_2$	-
Cycloheptadien	C_7H_{10}	-
Cycloheptatrien	C_7H_8	-
Cyclohexan	C_6H_{12}	-
Cyclohexanol	$C_6H_{12}O$	-
Cyclopentanol	$C_5H_{10}O$	-
Dichlorethin	C_2Cl_2	-
Dichlornitromethan	$CHCl_2NO$	-
1,2-Diethylbenzol	$C_{10}H_{14}$	-
Dimethylamin	C_2H_7N	-
3,4-Dimethylheptan	C_9H_{20}	-
2,5-Dimethylheptan	C_9H_{20}	-
3,4-Diemethylhexan	C_8H_{16}	-
2,2-Diemethyl-Isohexanol	$C_8H_{18}O$	-
2,2-Diemethyl-Isopentanol	$C_7H_{16}O$	-
2,2-Dimethyl-5-Hexanon	$C_8H_{16}O$	-
2,4-Dimethyl-5-Hexanon	$C_8H_{16}O$	-
Dimethylsulfid	C_2H_6S	12 ppb

Tab. 2-13: Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]

Substanz	Summenformel	ungefähre Konzentration
Distickstoffmonoxid	N_2O	1 - 20 ppb
Di-tert-Butyldisulfid	$C_8H_{18}S_2$	-
2,6-Di-tert-Butyl-4-Methyl-Phenol	$C_{15}H_{24}O$	-
Ethan	C_2H_6	0 - 10 ppb
Ethanol	C_2H_6O	770 ppb
Ethen	C_2H_4	23 ppb
Ethylacetat	C_4H_8O	17 ppb
Ethylbenzol	C_8H_{10}	-
2-Ethyl-1-Hexanon	$C_8H_{16}O$	-
Ethyl-2-Mercaptopropionate	$C_5H_{10}O_2S$	-
2-Ethyl-4-Methyl-1-Pentanol	$C_8H_{18}O$	-
Ethylphenylacetat	$C_{10}H_{12}O_2$	-
Ethylvalerat	$C_7H_{14}O_2$	-
Ethen	C_2H_4	-
Furan	C_4H_4O	14 ppb
Hexan	C_6H_{14}	-
Hexanal	$C_6H_{12}O$	9 - 13 ppb
2,3-Hexandion	$C_6H_{10}O_2$	-
Inden	C_9H_8	-
Isobutylalkohol	$C_4H_{10}O$	-
Isoflurane	$C_3H_2ClF_5O$	-
Isooktylalkohol	$C_8H_{18}O$	-
Isopren	C_5H_8	50 - 200 ppb
Isopropylalkohol	C_3H_8O	50 - 260 ppb
Isopropylbenzol	C_9H_{12}	-
Kohlenstoffdioxid	CO_2	5,9 %
Kohlenstoffmonoxid	CO	1 - 10 ppm
Kohlenstoffsulfid	COS	0 - 10 ppb
Limonen	$C_{10}H_{16}$	-
Mesitylen	C_9H_{12}	-
Methan	CH_4	2-10 ppm
Methanol	CH_4O	300 - 500 ppb
Methanthiol	CH_4S	-

Tab. 2-13: Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]

Substanz	Summenformel	ungefähre Konzentration
1-Methylethyl-4-Methanolbenzol	$C_{10}H_{14}O$	-
2-Methyl-3-Heptanon	$C_8H_{16}O$	-
5-Methyl-3-Heptanon	$C_8H_{16}O$	-
5-Methyl-4-Heptanon	$C_8H_{16}O$	-
2-Methyl-1-Okten	C_9H_{18}	-
Methyl-tert-Butylketon	$C_6H_{12}O$	-
m-Xylene	C_8H_{10}	-
Naphtalin	$C_{10}H_8$	-
N-Butyl-1-Butanamin	$C_8H_{19}N$	-
n-Dekanal	$C_{10}H_{20}O$	-
n-Dekan	$C_{10}H_{22}$	-
n-Dodekan	$C_{12}H_{26}$	-
Neopentylacetat	$C_7H_{14}O_2$	-
n-Heptan	C_7H_{16}	-
n-Hexylmercaptan	$C_6H_{14}S$	-
n-Nonan	C_9H_{20}	-
n-Oktan	C_8H_{18}	-
n-Propylacetat	$C_5H_{10}O_2$	-
o-Dichlorbenzol	$C_6H_4Cl_2$	-
Oktylacetat	$C_{10}H_{20}O_2$	-
o-Nitrotoluol	$C_7H_7NO_2$	-
o-Xylen	C_8H_{10}	-
Ozon	O_3	-
Pentan	C_5H_{12}	0 - 10 ppb
2,3-Pentandion	$C_5H_8O_2$	-
1-Pentanol	$C_5H_{12}O$	-
2-Pentanon	$C_5H_{10}O$	-
3-Pentanon	$C_5H_{10}O$	-
1-Penten	C_5H_{10}	21 ppb
p-Dichlorbenzol	$C_6H_4Cl_2$	-
Phenyllessigsäure	$C_8H_8O_2$	-
Propanol	C_3H_8O	130 ppb
Propiophenon	$C_9H_{10}O$	-

Tab. 2-13: Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]

Substanz	Summenformel	ungefähre Konzentration
p-Toluolaldehyd	C_8H_8O	-
p-Xylen	C_8H_{10}	-
Sauerstoff	O_2	15,8 %
Stickstoff	N_2	73,5 %
Stickstoffmonoxid	NO	10 - 50 ppb
Stickstoffdioxid	NO_2	500 ppb
2,2,3,3-Tetramethylhexan	$C_{10}H_{22}$	-
2,2,5,5-Tetramethylhexan	$C_{10}H_{22}$	-
2,3,3,4-Tetramethylpentan	C_9H_{20}	-
2,3,3-Trimethylhexan	C_9H_{20}	-
2,3,5-Trimethylhexan	C_9H_{20}	-
Thiocyclopentan	C_4H_8S	-
Thioessigsäure	C_2H_4OS	-
Toluol	C_7H_8	-
trans-2-Hexenal	$C_6H_{10}O$	-
trans-2-Pentenal	C_5H_8O	-
trans-4-Nonenal	$C_9H_{16}O$	-
Trichlorethen	C_2HCl_3	-
Trimethylamin	C_3H_9N	-
Wasser	H_2O	3 %
Wasserstoffperoxid	H_2O_2	-

2.8 Spektrallampen

Zum Themenbereich dieser Arbeit besteht eine aktive Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. O. S. VASYUTINSKII aus St. Petersburg, Russland. Diese Kooperation wird von der Humboldt Stiftung gefördert und beinhaltet einerseits den Aufbau eines Zwei-Photonen-Spektrometers in St. Petersburg und die Entwicklung von Spektrallampen, um NO in der Atemluft mit einer transportablen UV-Lichtquelle nachweisen zu können.

Spektrallampen sind Lichtquellen, die auf einer Glimmentladung basieren. Die Glimmentladung ist eine Form des Plasmas, dem vierten Aggregatzustand, bei dem viele Ladungsträger ungebunden sind. Plasmen werden durch den Ionisierungsgrad, die Ionendichte, die Elektronendichte und die Neutralgasdichte beschrieben. Ein Plasma mit einem Ionisierungsgrad nahe 1 ist ein starkes Plasma, eine Glimmentladung hat typischerweise Ionisierungsgrade um 10^{-7} , es ist also schwach ionisiert.[94] Unterschieden werden Plasmen in thermische und nicht-thermische Plasmen. Dabei wird beurteilt, ob die im Plasma enthaltenen Teilsysteme (Elektronen, Ionen, Neutralgas) untereinander im thermischen Gleichgewicht sind oder nicht. Beim thermischen Plasma, welches auch als Gleichgewichtsplasma bezeichnet werden kann, haben alle Komponenten die gleiche Temperatur. Typische thermische Plasmen sind Bogen- und Funkenentladungen mit Temperaturen von etwa 1000 K bis 50000 K.[95]

Die für die Spektrallampen relevante Glimmentladung gehört zu der Gruppe der nicht-thermischen Plasmen. Hier steht eine relativ hohe Elektronentemperatur einer relativ niedrigen Neutralgastemperatur gegenüber, so dass die Temperatur des Gesamtsystems wesentlich geringer ist als beim thermischen Plasma. Für die Erzeugung von nicht-thermischen Plasmen können Teilchenstrahlung, Lichtstrahlung oder elektrische Felder benutzt werden. Entscheidend für die Erzeugung eines nicht-thermischen Plasmas mit Hilfe von elektrischem Strom ist die Zündspannung V_B . DC-Glimmentladungen können mit einer U-I-Kennlinie beschrieben werden, die in Abbildung 2-30 dargestellt ist. Dabei wird deutlich, dass für das Zünden einer Glimmentladung mehr Spannung notwendig ist als für die Erhaltung der Glimmentladung, dazu kann die sogenannte Brennspannung U_B als Vergleichswert betrachtet werden.

Zum Zünden der Spektrallampen soll eine Hochfrequenz-Wechselspannungsquelle benutzt werden, da durch das hochfrequente Wechselfeld eine höhere Dichte an Ladungsträgern vorkommt und deswegen mit einer höheren Lichtausbeute gerechnet werden kann. Die Abhängigkeit der Zündspannung vom Druck p und dem Elektrodenabstand d wird durch das Paschen-Gesetz beschrieben:[97, 98]

$$U_Z = \frac{B \cdot (p \cdot d)}{C + \ln(p \cdot d)}. \quad (2.87)$$

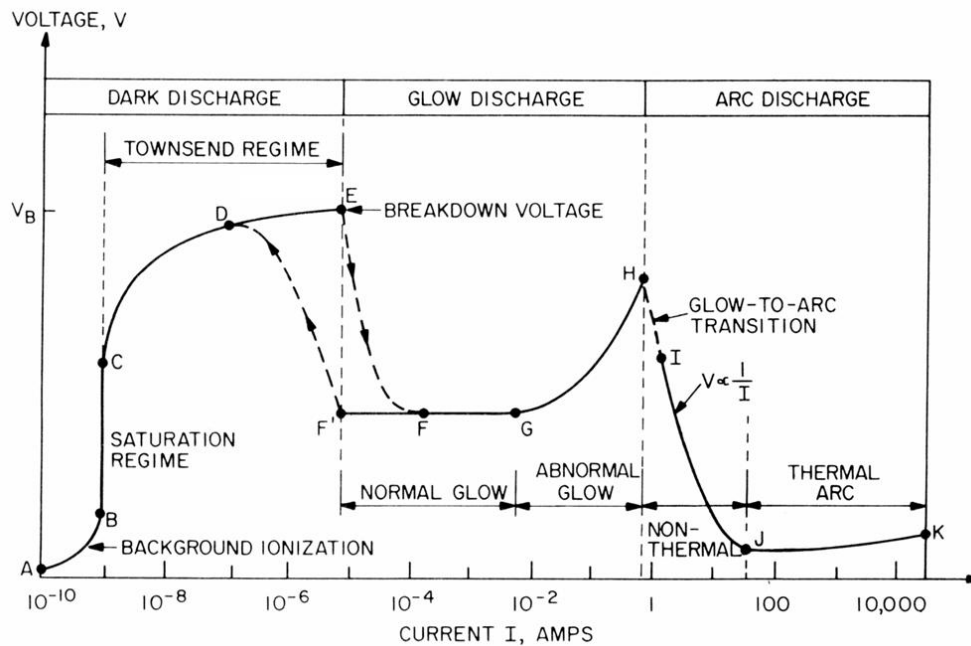


Abb. 2-30: Spannungs-Strom-Charakteristik einer Gleichspannungsentladung bei Drücken bis 100 mbar.[96]

B und C sind empirische, stoffspezifische Konstanten. Die Kernaussage des Paschen-Gesetzes ist die Tatsache, dass sich die Zündspannung U_Z nicht ändert, wenn sich das Produkt aus dem Druck p und dem Elektrodenabstand d nicht ändert.¹⁹ Abbildung 2-31 zeigt experimentell ermittelte Paschen-Kurven von verschiedenen Gasen. Die Paschen-Kurven weisen also ein Minimum auf, bei dem ein Gas oder Gasgemisch mit relativ wenig Spannung zum Plasma zündet. Das Wissen dieses Minimums kann das Zünden einer AC-Glimmentladung erleichtern oder überhaupt erst ermöglichen.

Die für den Nachweis von NO herzustellenden Spektrallampen bestehen aus einer Quarzsphäre, die mit wenigen mbar Luft gefüllt ist. Damit NO mit diesen Lampen nachgewiesen werden kann, muss die Wellenlänge der emittierten Strahlung mit einem der Übergänge in Abbildung 2-6 übereinstimmen. Diese Wellenlängen sollen durch Fluoreszenz vom NO selbst kommen. Laut LISCINSKY *et al.* rekombinieren Sauerstoff- und Stickstoffradikale bei einer Reaktion unter Einfluss eines weiteren Stoßpartners zu angeregtem NO, dass sodann den gleichen Desaktivierungsmechanismen unterliegt wie das durch den Laser angeregte NO.[7]

¹⁹Das Paschen-Gesetz gilt nicht bei sehr hohen und sehr niedrigen Drücken und streng genommen nur bei planparallelen Elektrodenplatten

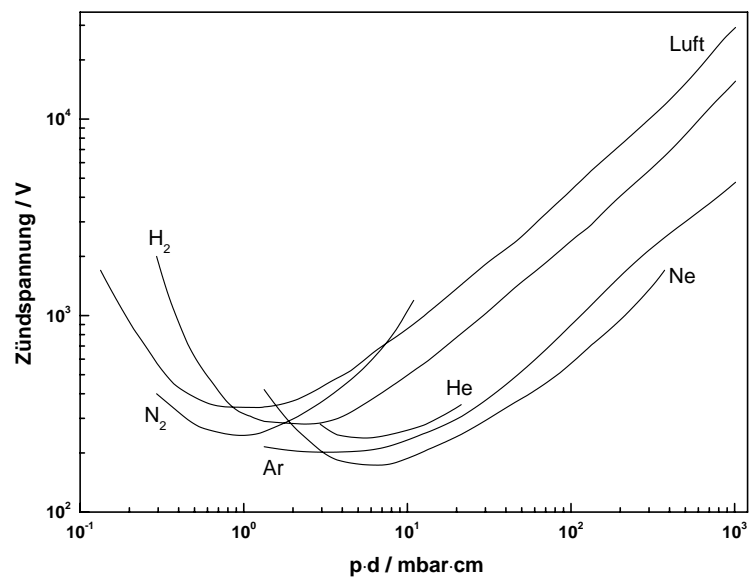


Abb. 2-31: Experimentelle DC Paschen-Kurven für verschiedene Gase.[97]

Kapitel 3

Experimentelles

In diesem Teil wird der experimentelle Aufbau beschrieben. Für spezielle Versuche wurde der Aufbau verändert, diese Veränderungen werden in Abschnitt 4 behandelt, direkt bei den Ergebnissen der Versuchsreihen. Hier wird der allgemeine Aufbau beschrieben, das heißt der Teil des experimentellen Aufbau, der bei den meisten der durchgeführten Experimente vorlag. Zusätzlich wird noch der experimentelle Aufbau zur Inbetriebnahme der Spektrallampen vorgestellt, da sich dieser gänzlich vom Aufbau des LIF-Experiments unterscheidet.

3.1 Das Laser-System

Das verwendete Laser-System besteht aus einem XeCl-Excimer-Laser, einem Farbstofflaser und einer Frequenzverdoppelungseinheit. Der Excimer-Laser (Lambda Physik LPX 600) wird mit Chlorwasserstoffgas (5 % in Helium), Xenon und Neon als Puffergas betrieben. Die Gase müssen eine Reinheit von mindestens 99,990 % aufweisen, um einen dauerhaften Betrieb des Lasers zu gewährleisten. Das Grundprinzip des Lasers beruht auf der Bildung von XeCl Dimeren, die bei einer Bogenentladung aus Chlorwasserstoff und Xenon entstehen. Da dieses Excimer nur im angeregten Zustand bindend ist, wird so die für Laserlicht erforderliche Besetzungsinversion erreicht. Dieses angeregte Dimer wird fälschlicherweise als Excimer bezeichnet, denn nach seiner Definition ist ein Excimer aus gleichen Atomen aufgebaut. XeCl ist genau genommen ein Exciplex. Da sowohl vom Hersteller als auch in der Literatur im Allgemeinen nur von Excimer-Lasern gesprochen wird, wird dieser Begriff auch in dieser Arbeit verwendet. Die für den Laserpuls verantwortliche Bogenentladung wird durch eine integrierte Elektronik generiert, die Spannungen reichen von 16,1 kV bis 24 kV bei Wiederholfrequenzen bis 50 Hz. Der erzeugte Laserpuls hat eine Wellenlänge von 308 nm, ein Strahlenprofil von ca. 4,5 cm x 1 cm, eine zeitliche Halbwertsbreite von etwa 50 ns und eine spektrale Halbwertsbreite von etwa 0,5 nm. Die Gasmischungen müssen regelmäßig gewechselt werden, ebenso müssen die Optiken gesäubert und justiert werden. Eine Gasmischung reicht je nach

Nutzung etwa 4 bis 8 Wochen, etwa jedes zweite Mal wurden die Optiken gesäubert und anschließend justiert. So erreicht der Excimerlaser Pulsenergien zwischen 80 mJ und 180 mJ.

Der Excimer-Laserstrahl pumpt einen Farbstoff-Laser (Lambda Physik FL 2002). Das heißt, dass der Excimer-Puls von Spiegeln umgeleitet wird und den im Farbstoff-Laser befindlichen Farbstoff (hier Coumarin 47¹) anregt. Coumarin 47 fluoresziert breitbandig im Bereich von 440 nm bis 484 nm mit einem Emissionsmaximum bei 456 nm und einer Effizienz von 18 %. Die Laserwellenlänge des Farbstofflasers wird mit Hilfe eines verstellbaren Gitters gewählt. Das Gitter hat 600 Linien pro mm und reflektiert das zu verstärkende Licht in der dritten bis achten Beugungsordnung. Bei den Experimenten wurde fast ausschließlich die 3. Beugungsordnung verwendet. Die Farbstofflösung liegt in zwei Küvetten vor. Die Lösung wird ständig umgewälzt, um die Photobleichung in den Küvetten möglichst gering zu halten. Insgesamt wird 1 Liter Farbstofflösung pro Küvette verwendet. Die Konzentration der Farbstofflösung der kombinierten Oszillator/Vorverstärker-Küvette beträgt $1,59 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, die Konzentration der Hauptverstärker-Küvette beträgt nur $0,53 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, weil die Fläche des Laserstrahls vorher verdreifacht wird. Laut Datenblatt des Herstellers hat der Farbstofflaser eine durchschnittliche Energie von etwa 10 W, abhängig von der Pumpquelle und dem Farbstoff. Die Bandbreite des Farbstofflasers wird mit $0,2 \text{ cm}^{-1}$ angegeben. Tatsächlich belief sich die experimentell ermittelte Energie auf ca. 5 mJ bei einer Wiederholfrequenz von 10 Hz mit einer spektralen Breite von $0,6 \text{ cm}^{-1}$ (vergleiche hierzu Abschnitt 4.1.4) und einer Pulsdauer von 30 ns. Der Farbstoff unterliegt trotz Umwälzung einer gewissen Photobleichung, so dass die Farbstofflösung regelmäßig erneuert werden musste.

Die Frequenzverdoppelungseinheit besteht aus einem β -Barium-Borat Kristall (BBO1 Kristall) und einem computerunterstützten Schrittmotor, um den Winkel des Kristalls zum Strahlengang einzustellen und nachzuführen. Die Verdoppelung der Frequenz beruht auf der oszillierenden Polarisation in einem nichtlinearen optischen Medium, in diesem Fall im BBO1-Kristall. Damit wird die doppelte Frequenz erzeugt, die sich aber normalerweise durch destruktive Interferenz auslöscht. Erst wenn der optische Brechungsindex in Ausbreitungsrichtung für die Grundwelle gleich dem für die erste Harmonische ist, ist die Interferenz konstruktiv und der frequenzverdoppelte Laserstrahl tritt messbar auf. Dieser nichtlineare Effekt tritt nur bei hohen Lichtintensitäten auf. Für die Praxis bedeutet dies, dass der Verdopplerkristall in einem bestimmten Winkel zum Laserstrahl stehen muss, um eine effiziente Verdoppelung zu erreichen. Wird die Wellenlänge verändert, muss dieser Winkel dynamisch angepasst werden, dazu dient der computerunterstützte Schrittmotor. Vor einem Scan muss

¹Coumarin 47 ist der Trivialname für 7-Dimethylamino-4-methyl-coumarin, Summenformel $C_{14}H_{17}NO_2$, 99 %

der Kristall zuerst kalibriert werden. Dazu wird ein Wellenlängenbereich gewählt, der später abgefahren werden soll. In diesem Bereich steuert der Computer nun fünf Punkte an, an denen der Anwender jeweils den optimalen Winkel manuell einstellen muss. Aus diesen Daten erstellt der Computer eine Kalibriergerade, anhand derer er für jede (im kalibrierten Bereich liegende) Wellenlänge den optimalen Winkel errechnen und ansteuern kann. Diese Art der Winkelanpassung ist passiv und im allgemeinen weniger genau als eine aktive Nachführung, wie sie bei einem *Autotracker* System verwendet wird. Der BBO1-Kristall kann im Wellenlängenbereich von 440 nm bis 630 nm zur Frequenzverdoppelung eingesetzt werden. Typischerweise wird eine Energieausbeute von 10 % erreicht, die im Experiment erreichte Pulsenergie rangierte zwischen 250 μJ und 800 μJ . Die gesamte Frequenzverdoppelungseinheit ist im Gehäuse des Farbstofflasers untergebracht, die Steuerung des Schrittmotors sowie die Kalibrierung erfolgt über das Bedienfeld des Farbstofflasers.

Normalerweise ist hinter der Verdopplereinheit ein Kompensator und ein Wellenlängenseparator angeordnet, auf die in diesem Experiment bewusst verzichtet wird. Der Kompensator dient dazu, durch den Verdopplerkristall hervorgerufene Strahlenversätze auszugleichen, damit der Strahlengang unabhängig der Kristallstellung unverändert bleibt. Der Separator wird zum Abtrennen der Grundwellenlänge benutzt. Er besteht aus vier Pellin-Broca-Prismen, die mit zwei Messingteilen so angeordnet sind, dass die Grundwellenlänge auf die Messingteile trifft, während die frequenzverdoppelte Wellenlänge in einem weiten Wellenlängenbereich den Laser ohne Versatz und Richtungsänderung verlässt. Auf beide Einrichtungen kann hier verzichtet werden, da immer nur ein sehr kleiner Wellenlängenbereich abgefahren wird, wo der Versatz keine nennenswerte Auswirkung auf die Messungen hat. Dafür steht mehr Laserenergie zur Verfügung, da auf vier der fünf Optiken verzichtet werden kann. Ein Pellin-Broca-Prisma wird allerdings benötigt, um die Wellenlängen zu separieren. Dieses ersetzt im verwendeten Aufbau ein Umlenkprisma. Zwei weitere Umlenkprismen sind nötig, um den Strahl durch die Messzellen zu bringen. Abbildung 3-1 zeigt den experimentellen Aufbau.

Der Excimer-Laser wird von einem Puls-Generator (Quantum Composers Model 9514) in einem Frequenzbereich von 1 Hz bis 50 Hz getriggert. Typische Wiederholraten, die im Experiment benutzt wurden, sind 5 Hz und 10 Hz. Damit es keine Interferenzen mit der Netzfrequenz von 50 Hz gibt, wird der Pulsgenerator mit der Netzfrequenz synchronisiert und durch geeignete Delays die gewünschte Wiederholrate eingestellt.

Die Energie des Excimer-Lasers wird mit einem pyroelektrischen Messkopf (Gentec ED-500) gemessen, während zum Messen des UV-Laserstrahls ein pyroelektrischer Messkopf mit Verstärkereinheit (Laser Precision Corp. RJP 735) verwendet wird. Zum Auslesen der Messköpfe wird ein digitales Speicheroszilloskop mit 125 MHz Bandbreite (LeCroy 9400) benutzt.

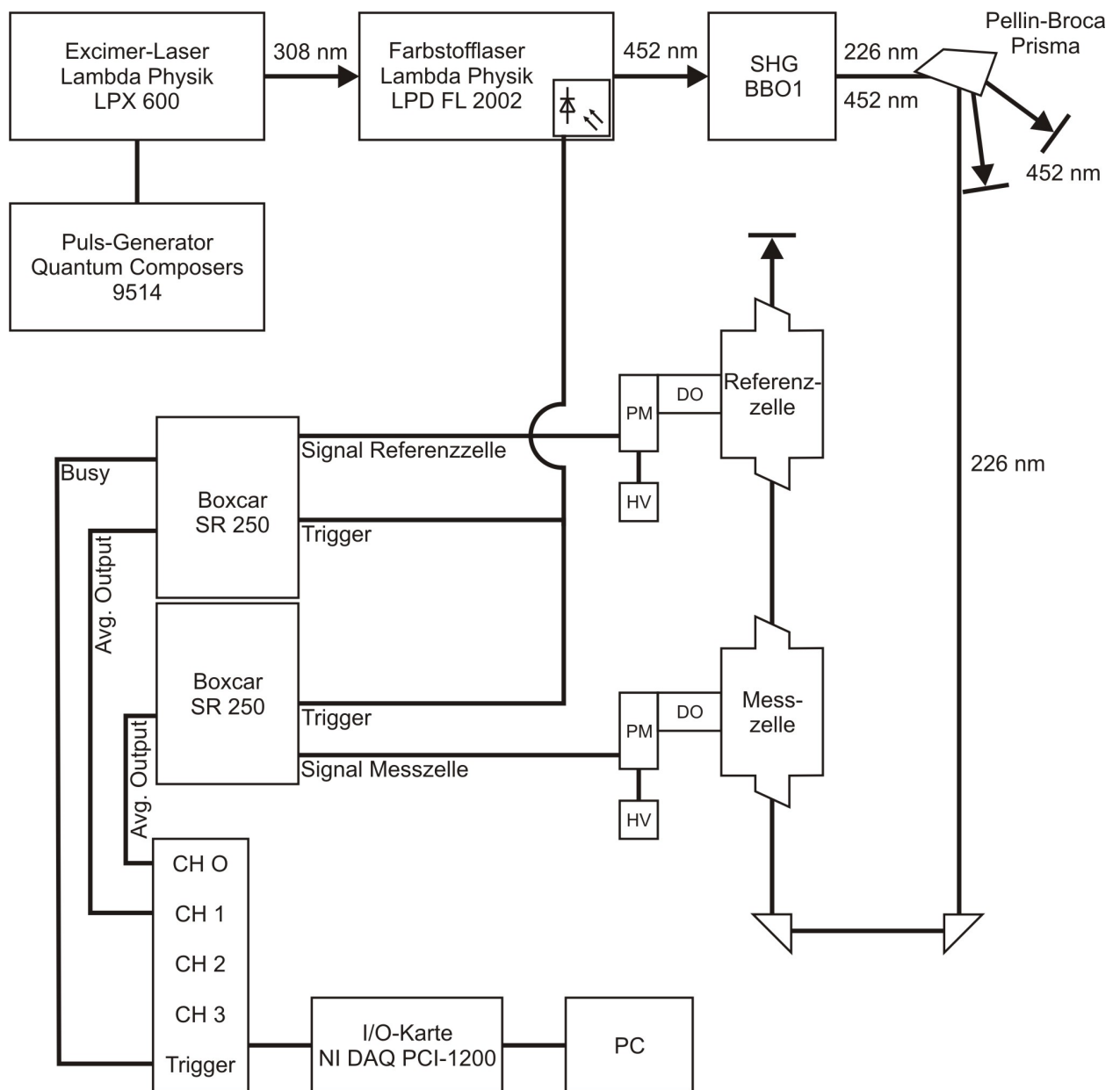


Abb. 3-1: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus.

3.2 Die Zellen

Es werden zwei Zellen verwendet. Die Zelle, die der Laserstrahl zuerst passiert ist die Messzelle, hier werden die zu vermessenden Gase im Durchfluss durchgeleitet. Die Messzelle dahinter ist die Kalibrierzelle, sie ist während der Messungen mit einem Kalibriergas gefüllt.

Die Messzelle ist ein Kubus aus Edelstahl mit einer Kantenlänge von 10 cm, in den aus allen drei Raumrichtungen Durchbohrungen von 8 cm Durchmesser eingebracht sind. Mit Hilfe von Gewindestangen lassen sich so an allen Seiten Edelstahlplatten (9 cm · 9 cm, 8 mm dick) befestigen, an die Kleinflansche befestigt sind. In Durchgangsrichtung des Lasers sind per Kleinflansch DN40 zwei Messingteile angebracht, die es ermöglichen, Quarzglasfenster vakuumdicht zu verschrauben. Die Quarzglasfenster sind im Brewster-Winkel zum Laserstrahl angeordnet. Um Rückreflexe der Fenster zu vermeiden, ist jeweils ein geschwärztes Woodsches Horn an den Messingteilen montiert. In den Messingteilen sind jeweils Pinholes (4 mm Durchmesser) angebracht, um den Strahlengang genau justieren zu können. Oben und unten auf der Zelle sind die Kleinflansche DN16 für das Gasflusssystem zu finden, oben ist die Gaseinspeisung und das Manometer befestigt, unten das automatische Ventil und der Bypass. Vorne ist die Detektionsoptik verschraubt.

Die Referenzzelle besteht aus einem Quader aus Aluminium, der ähnlich durchbohrt ist wie die Messzelle. Der Deckel des Quaders ist eine Messingplatte (15 cm x 15 cm, 1 cm dick) mit einem Kleinflansch DN40, an dem ein Ventil zum Gaseinlass angeschraubt ist. Der Boden ist eine Messingplatte derselben Dimension, an die drei Kleinflansche DN16 und ein Kleinflansch DN40 angebracht werden können. Dort ist die Absaugung und die Manometer befestigt. Das Aussehen der Referenzzelle in Durchgangsrichtung des Lasers ist analog zur Messzelle. Auch die Detektionsoptik ist gleichwertig. Auf der Rückseite des Quaders ist ein weiteres, großes Woodsches Horn befestigt.

3.3 Gaszufuhr

Das Gasflusssystem dient zusammen mit der Vakuumanlage der Bereitstellung von Mess- und Kalibriergasen. Es besteht aus zwei Massenflussreglern, einem automatischen Druckventil, einer Kühlfalle, einer Drehschieberpumpe und mehreren Manometern. Der schematische Aufbau der Vakuumanlage ist in Abbildung 3-2 dargestellt.

Die Gaszufuhr der Messzelle erfolgt dynamisch im Durchfluss, dazu können zwei Gasströme definiert werden. Es werden zwei verschiedene Gasflussregler (MKS Instruments 1179A) verwendet, der Gasflussregler für die Prüfgasmischung (2,5 ppm NO in Stickstoff, Westfalen

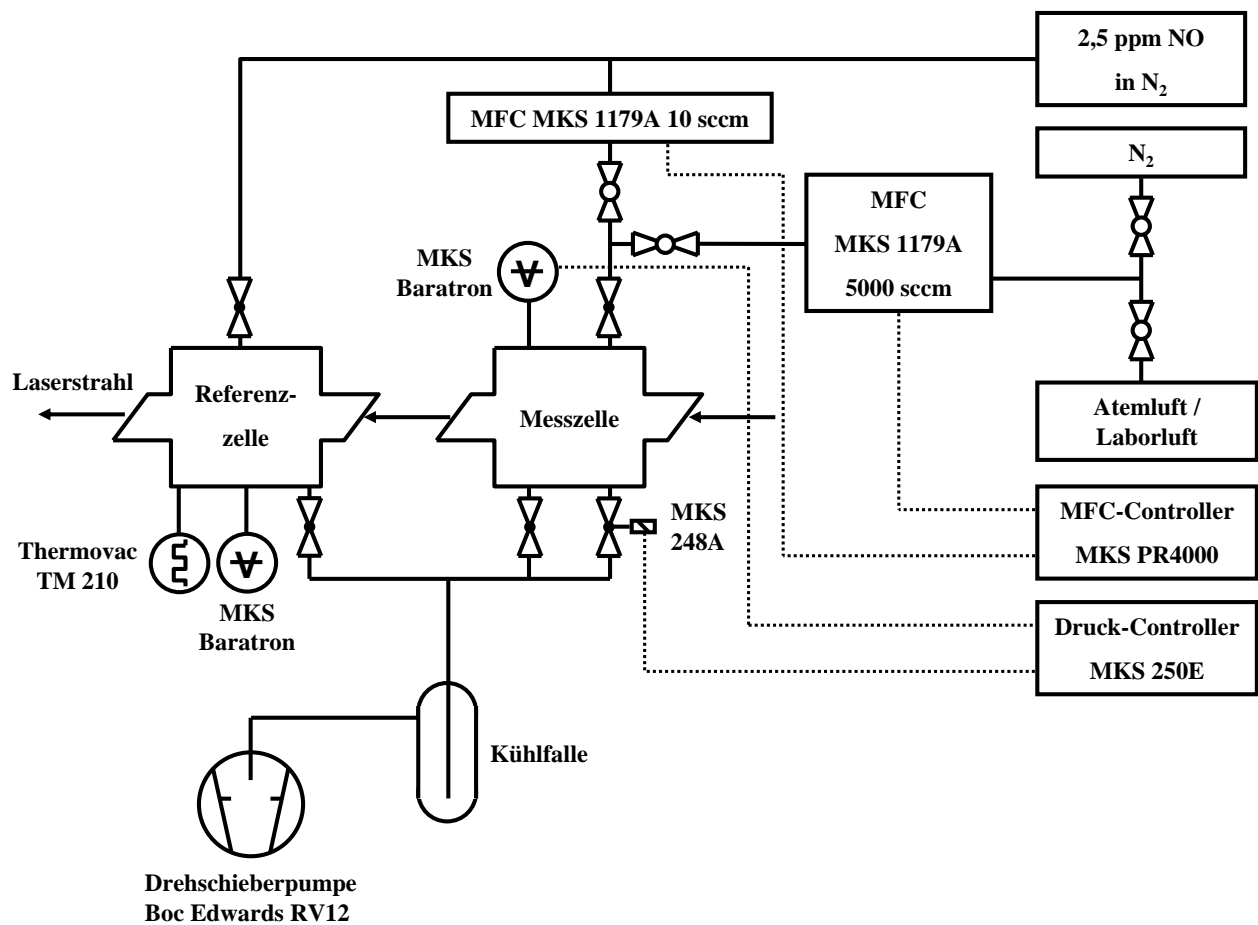


Abb. 3-2: Schematischer Aufbau der Gasversorgung.

AG) hat eine Durchflussrate von 0,2 sccm bis 10 sccm, während der Gasflussregler für die Messgase Durchflussraten von 50 sccm bis 5000 sccm erlaubt. Angesteuert werden beide Gasflussregler durch ein Steuergerät (MKS Instruments PR4000). Der Druck in der Messzelle wird mit einem Kapazitätsmanometer (MKS Instruments Baratron 221 AHS-D-100, 0,1 mbar - 100 mbar) überwacht, dass mit einem Steuergerät (MKS Instruments 250E) verbunden ist. Das Steuergerät regelt den Druck über ein automatisches Ventil (MKS Instruments 248A), so wird ein konstanter Druck bei einem konstanten Gasfluss eingestellt. Da das automatische Ventil einen relativ kleinen Querschnitt hat und es so unmöglich ist, bei großen Gasflüssen den Druck auf 12 mbar zu halten, ist die Messzelle pumpenseitig noch mit einem Bypass ausgestattet, über den schneller abgesaugt werden kann, allerdings existiert für diesen Bypass keine Regelung.

Die Vermessung der Referenzzelle erfolgt statisch, da kein weiterer Gasmischstand zur Verfügung steht. Zur Druckmessung werden ein Kapazitätsmanometer (MKS Instruments Baratron 221 AHS-D-100, 0,1 torr - 100 torr) und ein Wärmeleitfähigkeitsmanometer (Leybold-Heraeus Thermovac TM 210) benutzt.

Die gesamte Vakuumapparatur wird über eine Drehschieberpumpe (Boc Edwards RV12) abgesaugt, der eine Kühlfalle vorgeschaltet ist. Diese Kühlfalle soll verhindern, dass Pumpenöl in die Zelle gelangt und dort mit NO reagieren oder photochemisch aktiv werden kann. Die Kühlfalle wird mit flüssigem Stickstoff betrieben. Trotz der Kühlfalle müssen die Fenster der Zellen regelmäßig gesäubert werden, da sich dort, wo der Laserstrahl ein- bzw. austritt, eine braune Substanz ablagert.

Alle verbauten Teile der Vakuumanlage bestehen aus Edelstahl und Teflon, um Reaktionen und Adsorptionen zu minimieren. Die Gummidichtungen der Kleinflansche sind aus Viton.

3.4 Die Detektionsoptik

Die Detektionsoptik wurde in Abschnitt 2.2.3 schon kurz erwähnt. Sie besteht im Wesentlichen aus einer f/1 Sammeloptik, einem Interferenzfilter und dem Photomultiplier. Der detaillierte Aufbau ist in Abbildung 2-16 dargestellt. Die gesamte Detektionsoptik ist in einem Gehäuse aus Messing und Aluminium angeordnet, das fest mit der Zelle verschraubt wird. Ein O-Ring sorgt für eine dichte Verbindung. Die beiden Linsen lassen sich über Gewinde justieren, um die Signalstärke optimal einstellen zu können.

Die zwei verwendeten Quarzlinsen mit einem Durchmesser von 50 mm sollen die Fluoreszenz auf den Photomultiplier fokussieren. Hinter der ersten Sammellinse ist ein Quarzglasfenster angeordnet, das die Zelle vakuumdicht verschließt. Dann muss das Fluoreszenzlicht den Interferenzfilter (Andover Corporation 248FS10-50) passieren. Der Filter hat eine Transmission von 16,60 % bei der zentralen Wellenlänge von 250,964 nm. Die Halbwertsbreite beträgt 10,972 nm. Bei den verwendeten Übergängen $A^2\Sigma^+(v' = 0) \leftarrow X^2\Pi(v'' = 0)$ für die Anregung um 226 nm und $A^2\Sigma^+(v' = 0) \rightarrow X^2\Pi(v'' = 2)$ für die Fluoreszenz bei 247,4 nm bedeutet das eine Transmission von 0,3 % bzw. 12 %. Der Filter besitzt typbedingt noch ein weiteres, wesentlich kleineres Maximum bei der doppelten Wellenlängen. Dies hat jedoch keinen Einfluss auf das Experiment.

Die verwendeten Photomultiplier (Hamamatsu R3788 an der Messzelle und Hamamatsu 1P28 an der Referenzzelle) sind die einzigen Bauteile, die nicht bei beiden Zellen gleich sind. Beide Photomultiplier sind sogenannte Side-On-Photomultiplier, die aktive Photokathode ist seitlich auf dem Photomultiplier angeordnet. Beide Photomultiplier haben 9 Dynoden und können mit maximal 1500 V Gleichspannung betrieben werden. Die Quanteneffizienz bei 226 nm liegt bei 30 % (R3788) und 20 % (1P28). Der Verstärkungsfaktor beträgt bei beiden Geräten $1,0 \cdot 10^7$ und der Dunkelstrom 5 nA. Die Photomultiplier sind in Gehäusen

aus Messing untergebracht, dass an das Gehäuse der restlichen Optiken verschraubt wird. Zwei Hochspannungsnetzteile (0-3000 V) dienen als Spannungsversorgung, der Signalausgang der Photomultiplier ist am Boxcar Integrator angeschlossen. Vor der Photokathode soll ein Pinhole aus schwarzer Pappe (21 mm x 5 mm) das Licht absorbieren, das diffus in die Abbildungsoptik gelangt.

Während der Messungen wird die gesamte Detektionsoptik inklusive der Photomultipliergehäuse mit schwarzen Tüchern abgedeckt, um den Lichteinfluss des Umgebungslichts zu minimieren, auch wenn das Labor prinzipiell immer dunkel gehalten wird.

3.5 Signalverarbeitung

Die Elektronik zur Signalverarbeitung ist der Teil der Apparatur, der aus der Ausgangsspannung der Photomultiplier ein verwertbares Signal macht. Sie besteht aus zwei Boxcar Integratoren (Stanford Research Systems SR 250), einer Multi-I-O-PC-Steckkarte (National Instruments DAQ PCI-1200) und einem Standard PC.

Die Boxcar Integratoren können Spannungen zwischen -2 V und +2 V bei einem Eingangswiderstand von 1 M Ω verarbeiten. Die eingespeiste Spannung wird aufintegriert, dabei lässt sich die Integrationsdauer zwischen 1 ns und 16,3 μ s stufenlos einstellen und dazu zusätzlich eine Zeitverzögerung zwischen Triggersignal und Integrationsbeginn zwischen 1 ns und 100 ms. Abbildung 3-3 illustriert die Funktionsweise des Boxcar. Typischerweise wurde im Experiment eine Zeitverzögerung (t_A) von 0 - 30 ns und eine Integrationszeit (t_E) von 300 - 400 ns gewählt. Zusätzlich stellt der Boxcar Integrator noch eine Funktion zur Mittelung der Daten zur Verfügung.

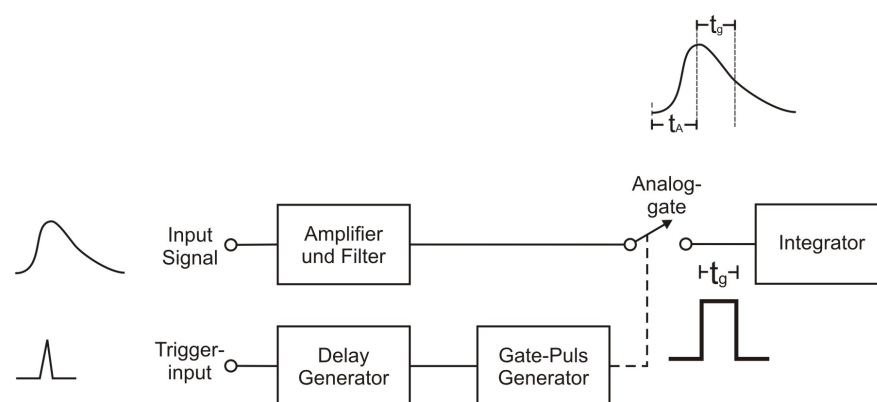


Abb. 3-3: Schematischer Aufbau eines Boxcar Integrators.[99]

Das Ausgabesignal vom Boxcar ist eine Spannung zwischen -10 V und + 10 V. Dieses Signal wird über den Analog-Digital-Wandler an den PC weitergegeben. Ein *LabVIEW*-Programm,

dass für die Anforderungen dieses Experiments optimiert wurde, visualisiert die Daten und speichert sie als ASCII- Tabelle.[100] Damit können die aufgenommen Daten mit jedem handelsüblichen wissenschaftlichen Datenanalyseprogramm ausgewertet werden. An der Karte stehen 4 Eingänge zur Verfügung, die jeweils zwischen 0 V und 10 V aufnehmen können. Im Extremfall können also vier Signale gleichzeitig detektiert werden. Normalerweise sind nur die vom Boxcar aufintegrierten Photomultipliersignale angeschlossen. Das *LabVIEW* Programm kann maximal 32767 Punkte aufnehmen, die sich auf alle aktiven Kanäle verteilen.

Die Boxcar Integratoren werden von einer Photodiode getriggert, die innerhalb des Farbstofflasers angeordnet ist. Im Farbstofflaser entsteht durch das Pumpen der Farbstofflösung breitbandiges Fluoreszenzlicht, das nicht für den Laser genutzt werden kann. Dieses Fluoreszenzlicht fällt auf eine Photodiode, die so die Elektronik automatisch mit dem Laserpuls synchronisiert. Der Zeitpunkt kann durch die Anpassung der Zeitverzögerung optimiert werden. Wenn der Boxcar ein Signal verarbeitet hat und ausgibt, quittiert er dies mit einem Puls über seinen *busy* Ausgang, der dem *LabVIEW* Programm signalisiert, einen Punkt pro aktiviertem Kanal zu setzen.

3.6 Auswertungsmethoden

Es wurde eingangs schon erwähnt, dass LIF keine absolute Messmethode ist, das System muss also kalibriert werden, um NO-Konzentrationen genau quantifizieren zu können. Diese Kalibrierung muss täglich erfolgen, da viele Parameter auf die gemessene Signalintensität einwirken und ein Vergleich von Messdaten, die an verschiedenen Tagen aufgenommen wurden, schnell zu Ungenauigkeiten führen kann.

Eine Methode zur Kalibrierung ist die genaue Kenntnis der Geräteparameter der beiden Zellen. Dann kann, sofern sich keine Parameter ändern, mit einer Gasmischung, deren Konzentration genau bekannt ist, eine unbekannte Gasmischung einfach anhand des simultan gemessenen Referenzsignals quantifiziert werden. Diese Methode ist sehr elegant und zeitsparend, hat sich in der Praxis jedoch nicht bewährt. Der Grund dafür sind die Unregelmäßigkeiten der Photomultiplier, die nicht genau synchronisiert werden können.

Eine weitere Methode zur Kalibrierung stellt die Benutzung von klassischen Kalibrierungsgeraden dar. Wenn ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration und der Signalintensität vorliegt, was beim LIF-Experiment der Fall ist, kann das System kalibriert werden, indem einmal eine Kalibrierungsgerade aufgenommen wird. Anhand dieser Kalibrierungsgerade kann eine unbekannte Probe quantifiziert werden. Da das verwendete System tagesab-

hängig arbeitet, ist es sinnvoll, einmal am Tag eine Kalibrier Mischung zu vermessen, um eventuelle Schwankungen der Geräteparameter ausgleichen zu können.

Eine dritte Methode ist die Benutzung des Standardadditionsverfahrens.[99] Das Grundprinzip dieser Methode ist, aus der zu vermessenden Probe selbst einen Standard zu machen. Dazu wird die Probe vermessen und dann schrittweise definierte Mengen an NO zugegeben. Die so erhaltenen Messdaten ergeben bei Auftragung der zugeführten Konzentration gegen die Signalstärke eine Gerade, deren Schnittpunkt mit der Ordinate die Konzentration der unbekannten Probe darstellt. Der Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse dagegen bezeichnet die Signalstärke der Probe. Abbildung 3-4 veranschaulicht diesen Sachverhalt.

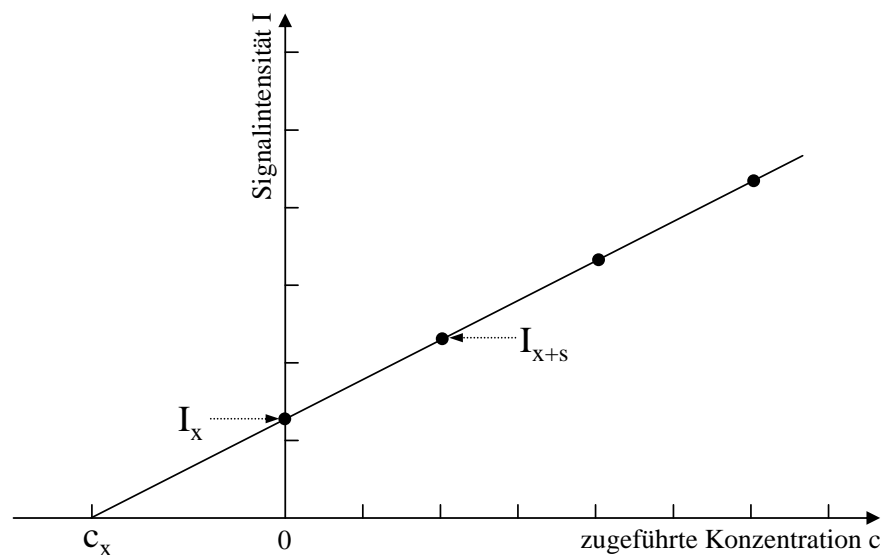


Abb. 3-4: Schematische Darstellung des Standardadditionsverfahrens.

Die Grundlage für das Standardadditionsverfahren ist die Proportionalität der Signalstärke zu der Konzentration, diese Proportionalität ist hier gegeben. Mathematisch ausgedrückt bedeutet das für die Abhängigkeit einer Signalintensität I_x von der Konzentration c_x :

$$I_x = m \cdot c_x. \quad (3.1)$$

Dabei ist m die Proportionalitätskonstante. Wird der Probe nun die Konzentration c_s zugefügt, heißt das für die Signalintensität

$$I_{x+s} = m \cdot c_{x+s} = \frac{m \cdot (c_x \cdot V_x + c_s \cdot V_s)}{V_x + V_s}. \quad (3.2)$$

Die Ausdrücke V_x und V_s entsprechen den Volumina der Probe und der zugeführten Konzentration. Gleichungen 3.1 und 3.2 können zusammengefasst werden. Auflösung nach c_x liefert:

$$c_x = \frac{I_x \cdot V_s \cdot c_s}{I_{x+s} \cdot (V_x + V_s) - I_x \cdot V_x}. \quad (3.3)$$

Wenn $V_s \ll V_x$ gilt, wovon ausgegangen werden kann, vereinfacht sich Gleichung 3.3 zu:

$$c_x = \frac{I_x \cdot V_s \cdot c_s}{(I_{x+s} - I_x) \cdot V_x}. \quad (3.4)$$

Da alle vorkommenden Ausdrücke bekannt sind, kann die Konzentration c_s berechnet werden.

Die Vorteile des Standardadditionsverfahrens sind eine höhere Präzision durch die lineare Regression, die Unabhängigkeit von sonstigen Kalibrierungen und die Unabhängigkeit von äußeren Parametern wie der Photomultiplier-Spannung oder der Boxcar-Empfindlichkeit, solange diese Parameter während der Messung konstant gehalten werden. Selbst die Fluoreszenzlöschung spielt beim Standardadditionsverfahren keine Rolle, da nur geringe Mengen an NO zugegeben werden und die Fluoreszenzlöschung daher für die ganze Messung als konstant betrachtet werden kann. Es werden also direkt absolute Konzentrationen ermittelt, durch die Verwendung der Gasmischapparatur geht das Zumischen von geringen bekannten NO-Konzentrationen schnell und zuverlässig.

Die Nachteile der Methode sind der höhere Zeitaufwand und der Anspruch, dass die Probe über den Zeitraum der Messung konstant bleiben muss. Messungen, die auf einer schnellen Zeitskala erfolgen müssen, wie zum Beispiel Online-Messungen der Atemluft, eignen sich genauso wenig für das Standardadditionsverfahren wie das Vermessen von Proben, bei denen sich der NO-Gehalt zeitabhängig verändert. Für alle anderen Proben stellt das Standardadditionsverfahren die beste Art der Kalibrierung dar und wird daher überwiegend verwendet.

3.7 Spektrallampen

Der experimentelle Aufbau, der zur Inbetriebnahme und Vermessung der Spektrallampen benutzt wurde, ist völlig unabhängig von der oben beschriebenen Apparatur. Zum Zünden der Lampen wird ein Hochfrequenzgenerator (ENI ACG-3B) und ein Anpassungsnetzwerk (ENI MW-5D) verwendet. Die Strom-Spannungs-Charakteristika werden von einer V/I-Probe™(ENI) aufgezeichnet und über einen A/D-Wandler an einen Standard-PC weitergeleitet. Das von der Lampe emittierte Licht wird mit einer Quarzlinse gebündelt, mit einem Monochromator (Jobin-Yvon Triax MARS99/61) spektral zerlegt und mit einer ICCD-Kamera (LaVision Flame Star 2F) detektiert. Abbildung 3-5 zeigt den schematischen Aufbau zum Zünden und Vermessen der Spektrallampen.

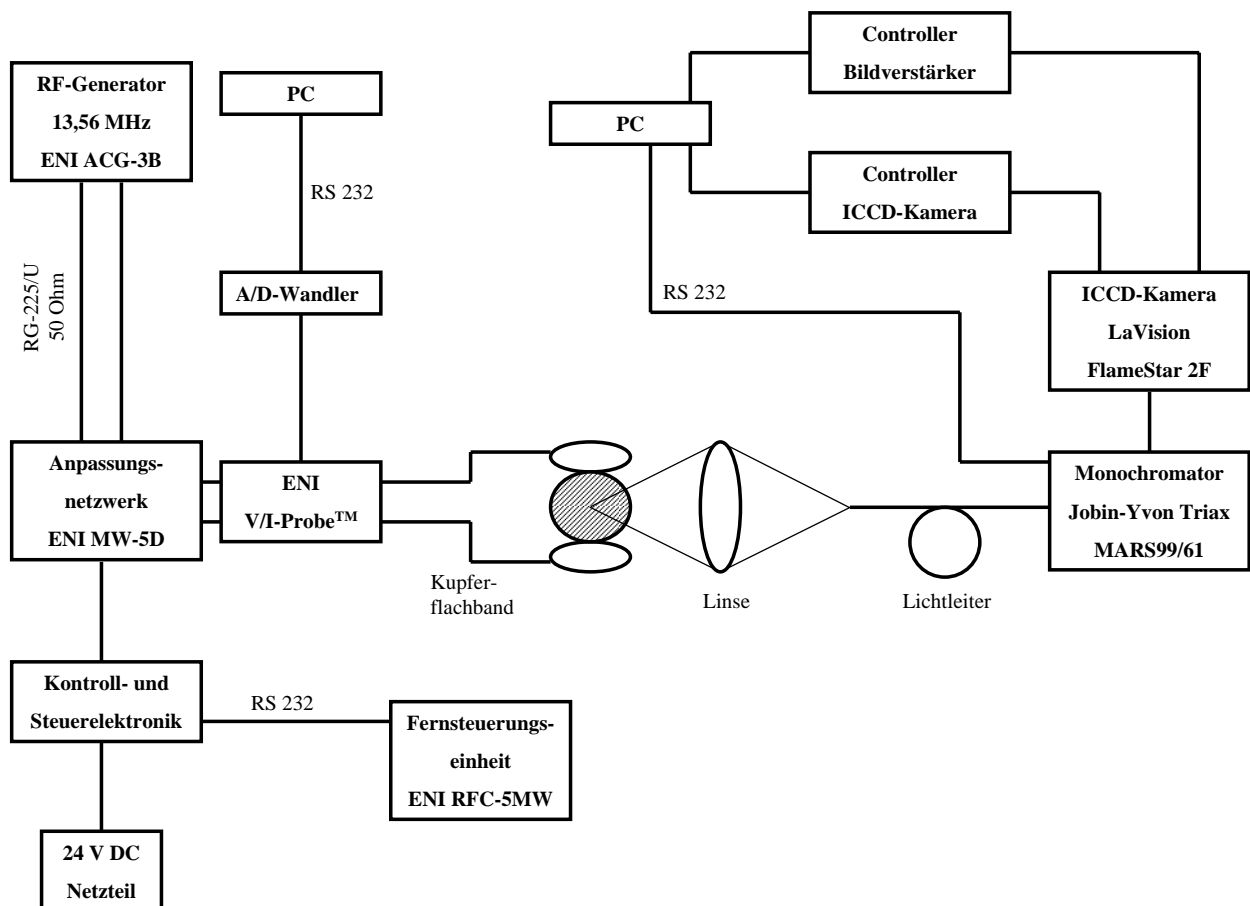


Abb. 3-5: Schematischer Aufbau zum Betreiben und Vermessen von Spektrallampen.

Für das Experiment wurde eine Halterung für die Lampen konstruiert, die die Lampe sowohl arretiert als auch eine gute Anbindung an die elektrischen Kontakte ermöglicht. Diese Befestigungseinheit ist in Abbildung 3-6 zu sehen.



Abb. 3-6: Die Halterung für die Spektrallampen mit den elektrischen Anschlüssen im Detail.

Der Hochfrequenzgenerator generiert eine Frequenz von 13,56 MHz und hat eine Leistung von 300 W, die in 1 W Schritten verändert werden kann. Die Frequenz gehört zu den für den industriellen, wissenschaftlichen und medizinischen Bereich freigegebenen. Das Anpassungsnetzwerk wird gebraucht, um das elektrische Feld mit dem auftretenden magnetischen Feld zu synchronisieren. Es besteht aus zwei motorgesteuerten Kondensatoren und einer invariablen Spule, die zusammen einen Schwingkreis bilden. Das Anpassungsnetzwerk kann über eine Fernsteuereinheit (ENI RFC-5MW) bedient werden.

Die Verbindung zwischen dem Anpassungsnetzwerk und der Befestigungseinheit besteht aus zwei Kupferflachbändern. In Reihe angeschlossen ist die V/I-Probe™, die die Spannung, den Strom, die Impedanz und den Phasenwinkel während des Experiments aufzeichnet und über einen A/D-Wandler an den Rechner weitergibt.

Direkt vor der Lampe ist eine f/1 Sammellinse aus Quarz angeordnet, deren Fokus auf einem Lichtleiter liegt. Der Lichtleiter aus Quarz transmittiert Licht von 200 nm bis 900 nm und ist an den Monochromator angeschlossen. Mit Hilfe eines *blazed* holographischen Gitters mit 1200 Linien pro Millimeter kann der Monochromator einen Wellenlängenbereich von 190 nm bis 1200 nm bei einer Auflösung von 0,06 nm auftrennen. Die Photokathode der ICCD-Kamera kann Wellenlängen zwischen 200 nm und 800 nm detektieren. Die Daten werden über einen Controller an einen PC weitergeleitet und dort mit der zur Kamera gehörenden Software (LaVision DaVis 5.4.4) aufgezeichnet.

Kapitel 4

Ergebnisse

4.1 Charakterisierung des Experiments

Die Charakterisierung des Experiments ist der notwendige Schritt, um die Wirkungsweise der Apparatur vorzustellen und daraus eine Quantifizierung von unbekannten Proben zu ermöglichen. Die Kenntniss von Geräteparametern ist ebenso erforderlich wie der Einfluss von äußeren Umständen auf die Signalintensität.

4.1.1 Gemessene Spektren

Um die Wirksamkeit der Apparatur unter Beweis zu stellen, müssen zunächst Spektren aufgenommen werden. Um zu zeigen, dass NO einwandfrei identifiziert werden kann, wurden jeweils ^{14}NO -Spektren und ^{15}NO -Spektren mit Ein-Photonen-LIF und Zwei-Photonen-LIF aufgenommen und mit den simulierten Spektren verglichen. Zum Vermessen von Proben ist die Aufnahme von Spektren nicht notwendig, es reicht, einen möglichst starken Übergang zu detektieren. Die Wellenlänge wird während der Messungen nicht verändert. Da die emittierte Wellenlänge des Farbstofflaser leichten Schwankungen unterliegt, muss sie jeden Versuchtag durch ein aufgenommenes Spektrum genau ermittelt werden.

4.1.1.1 Ein-Photonen-LIF

Ein hochaufgelöstes Ein-Photonen-LIF Spektrum der $\gamma(0,0)$ -Bande stellt an die Apparatur keine besonderen Ansprüche. Da der Farbstofflaser über keinen Kompensator und Separator verfügt, wurde das Spektrum in Teilschritten von 0,2 nm aufgenommen und anschließend zusammengefügt. Das gemessene ^{14}NO -Spektrum einer Kalibriermischung (2,5 ppm NO in Stickstoff) ist in den Abbildungen 4-2 und 4-3 dargestellt. Die enthaltenen Übergänge entsprechen denen der simulierten Spektren, die auf den Abbildungen 2-12 und 2-13 dargestellt sind.

Beim Vergleichen der Spektren fallen zwei Unterschiede ins Auge: Zum Einen entsprechen die Peakhöhen der gemessenen Spektren nicht immer denen der simulierten Spektren und zum Anderen passen die Wellenlängenskalen der Spektren nicht exakt überein. Der Unterschied der Peakhöhen ist mit Schwankungen der Laserenergie zu erklären. Die Intensität der dargestellten Spektren stellt die Fluoreszenzintensität dar, die nach einem Anregungspuls direkt messbar ist. Schwankungen der Laserenergie spiegeln sich direkt im Spektrum wider. Um diese Schwankungen aus den Spektren zu entfernen, müssten die Messpunkte über mehrere Laserpulse gemittelt werden. Da das Spektrum auch so ausreichend charakterisiert werden kann, wurde auf eine Mittelung verzichtet. Die Verschiebung der Wellenlängen beruht auf einer Ungenauigkeit des Farbstofflasers. Das Gitter des Farbstofflasers lässt sich auf 0,005 nm genau einstellen (mit einer Reproduzierbarkeit von $6,3 \cdot 10^{-4}$ nm laut Datenblatt). Tatsächlich schwankt die Wellenlänge an einem Versuchstag um wenige $\frac{1}{10}$ Nanometer und zwischen Versuchstagen um einige $\frac{1}{10}$ Nanometer, jeweils nach der Frequenzverdoppelung. Die absolute Abweichung der Wellenlänge beträgt 0,409 nm, das Gitter kann allerdings nur vom Hersteller justiert werden. Die Verschiebung hat auf das Experiment keinerlei Einfluss, deswegen wurde sie nicht näher untersucht bzw. behoben. Alle Abbildungen von gemessenen Spektren beziehen sich auf die am Farbstofflaser eingestellten Parameter.

Abbildung 4-1 zeigt ein gemessenes ^{15}NO -Spektrum einer Kalibriermischung (2,5 ppm NO in Stickstoff) im Vergleich zum simulierten ^{15}NO -Spektrum. Die Wellenlängenverschiebung des Farbstofflasers wurde hier korrigiert.

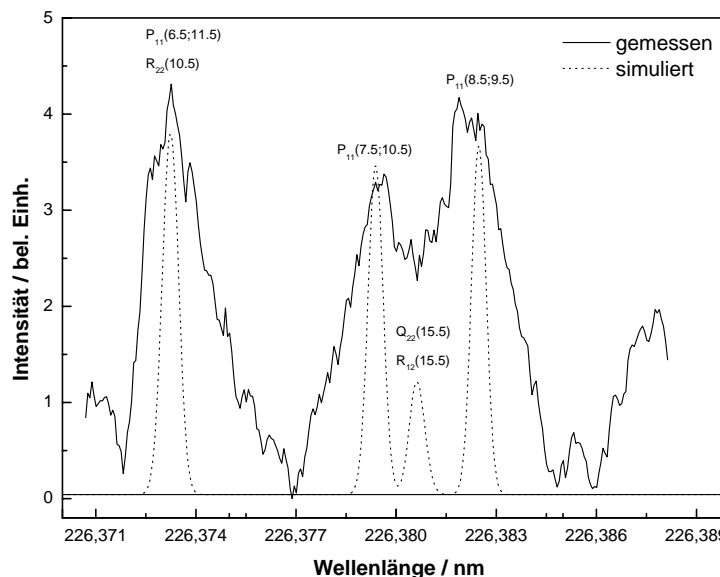


Abb. 4-1: Vergleich eines gemessenen ^{15}NO -Spektrums mit einem simulierten Spektrum. Die Linienebreite des simulierten Spektrums entspricht 3 GHz.[68]

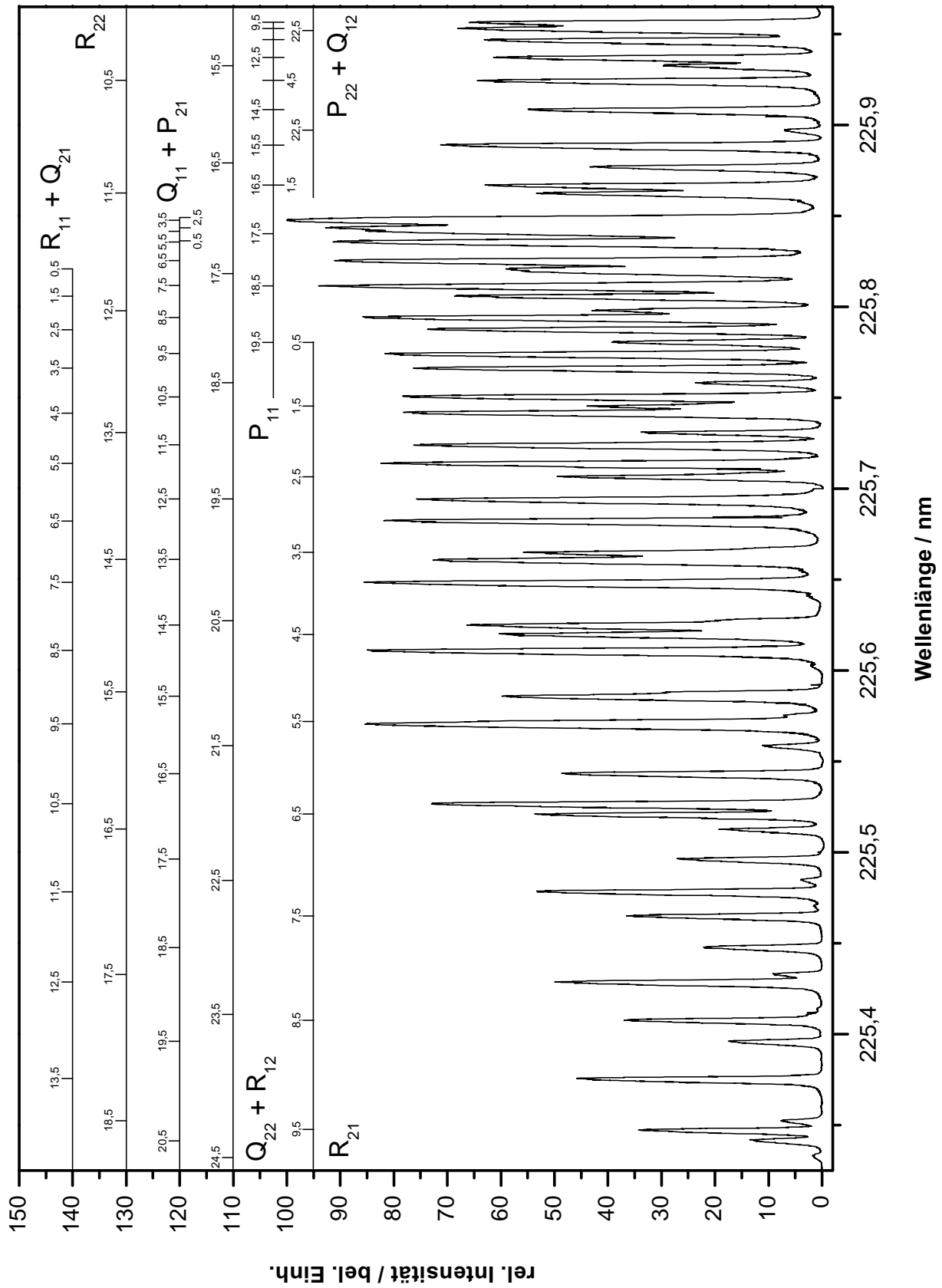


Abb. 4-2: Gemessenes LIF Spektrum von NO im Bereich von 225,325 nm bis 225,965 nm.

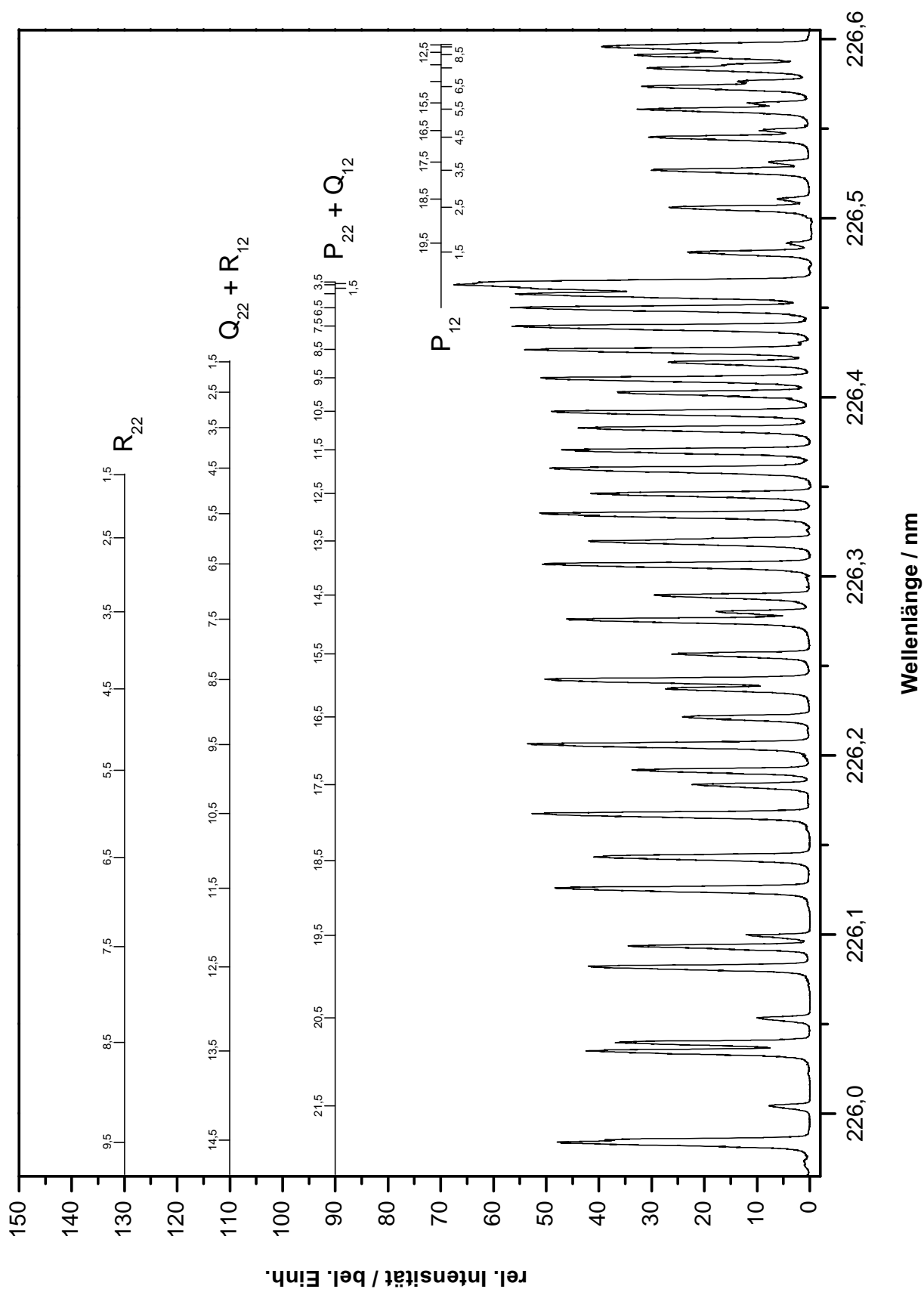


Abb. 4-3: Gemessenes LIF Spektrum von NO im Bereich von 225,965 nm bis 226,605 nm.

4.1.1.2 Zwei-Photonen-LIF

Die LIF Spektren, die mit einer Zwei-Photonen-Anregung durchgeführt wurden, wurden mit purem NO vermessen, da die Apparatur nicht auf ein Zwei-Photonen-Experiment optimiert ist. Die Abbildungen 4-5 und 4-6 zeigen ein gemessenes ^{14}NO -Spektrum. Ein gemessenes ^{15}NO -Spektrum von NO ist in Abbildung 4-4 dargestellt. Das ^{15}NO -Spektrum wurde mit einer besonderen Mittelungstechnik optimiert. Während durch die Mittelung am Boxcar Informationen verloren gehen und die Peaks im Vergleich zum Untergrundrauschen schrumpfen, wurde hier der in Frage kommende Bereich ohne Mittelung zehn Mal hintereinander aufgenommen und dann erst wurden die Daten gemittelt. Dies gewährleistet ein Optimum an Informationsgehalt bei gleichzeitig maximalem Signal-zu-Rausch-Verhältnis.

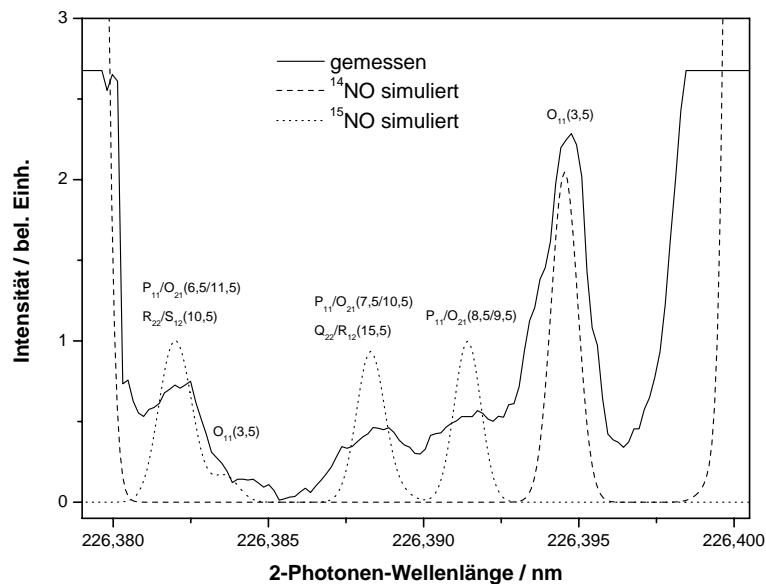


Abb. 4-4: Vergleich eines gemessenen Zwei-Photonen- ^{15}NO -Spektrums mit einem simulierten Spektrum. Die Linienbreite des simulierten Spektrums entspricht 6 GHz.[68]

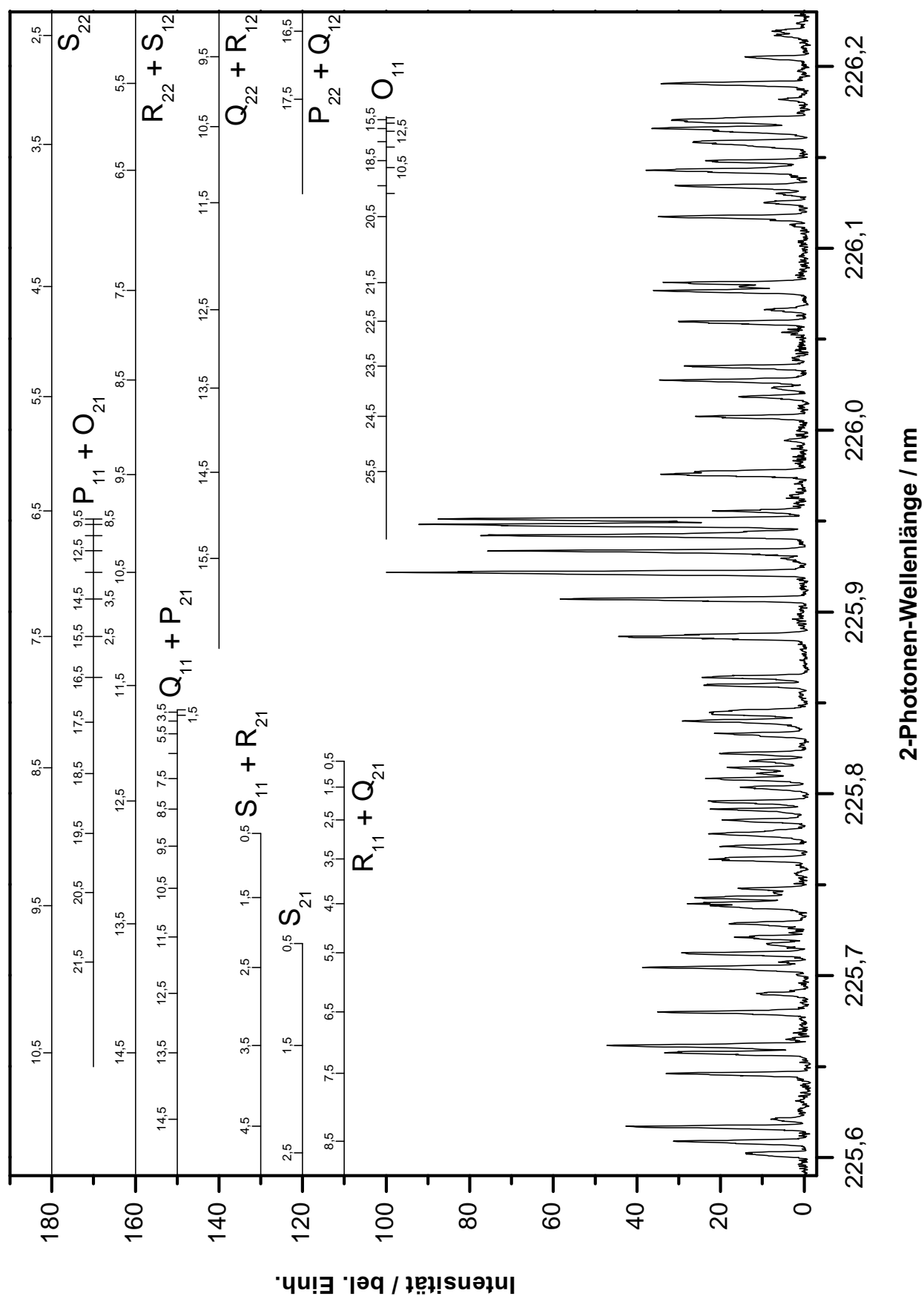


Abb. 4-5: Gemessenes 2-Photonen-LIF Spektrum von NO im Bereich von 225,59 nm bis 226,23 nm.

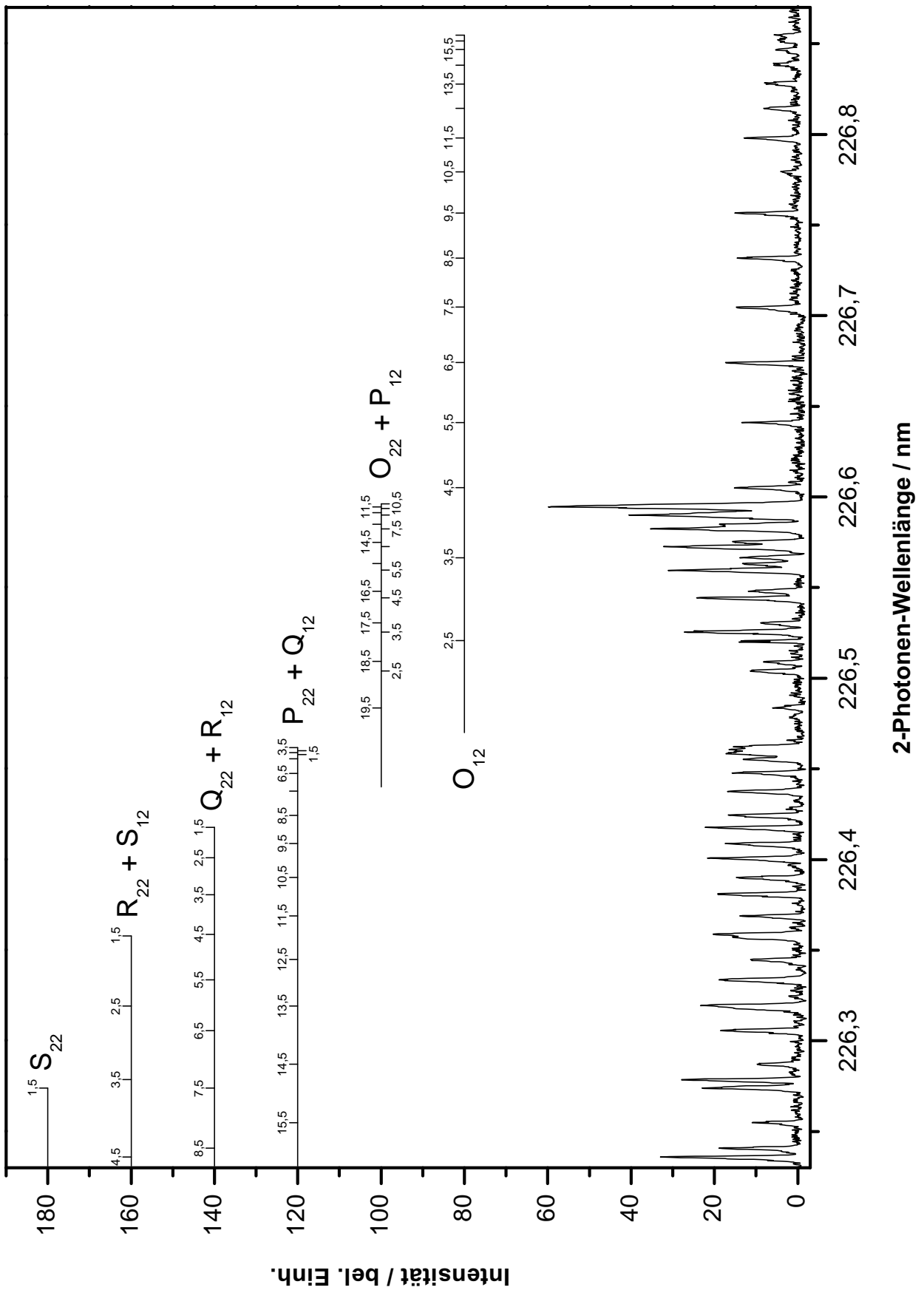


Abb. 4-6: Gemessenes 2-Photonen-LIF Spektrum von NO im Bereich von 226,23 nm bis 226,87 nm.

4.1.2 Fluoreszenzlöschung

Das in Abschnitt 2.4 theoretisch behandelte Thema der Fluoreszenzlöschung soll hier nun praktisch beschrieben werden. In der Praxis stellt die Fluoreszenzlöschung ein nicht zu unterschätzendes Problem dar, weil die meisten biologischen Proben Gase enthalten, die hohe Fluoreszenzlöschungskonstanten aufweisen und somit die Signalstärke signifikant verringern.

4.1.2.1 Druckabhängigkeit des Signals

Um im Experiment ein maximales Signal detektieren zu können, muss der Druckbereich optimal eingestellt sein. Zu diesem Zweck wurde die Druckabhängigkeit der Signalintensität untersucht. Da die kapazitiven Druckmessköpfe eine Ausgangsspannung zwischen 0 V und 10 V vorweisen, können sie direkt über die I/O-Wandlerkarte mit dem PC verbunden werden. Nachdem der Laserstrahl auf einen Übergang einjustiert wurde, wurde die Zelle dann mit Hilfe der Massenflussregler in verschiedenen Druckbereichen mit Kalibriergas befüllt. Diese Versuchsanordnung wurde auch mit Atemluft und Laborluft durchgeführt. Für die Vermessung von Atemluft wurden verschließbare Sammelbehälter aus PVF verwendet, die über eine Quetschverbindung an die Gasversorgung der Messzelle angeschlossen werden können. Die Sammelbehälter wurden mit einem Atemzug in 10 s befüllt.

Zunächst wurde das Zeitfenster der Integration so gewählt, dass davon ausgegangen werden kann, dass die gesamte Fluoreszenzintensität I_G detektiert wird. Die Zeitverzögerung betrug $t_A = 0$ s, so dass die Integration des Signals vor dem Laserpuls anfang und nach Abklingen der Fluoreszenz aufhörte, also gilt näherungsweise $t_E = \infty$. Das bedeutet, dass nach Gleichung 2.61 der Exponentialterm wegfällt und die Signalintensität bei hohen Drücken gegen einen konstanten Wert strebt:

$$I_{obs} = \lim_{p \rightarrow \infty} \frac{A_q \cdot p \cdot k_F}{k_F + k_Q \cdot p} = \frac{A_q \cdot k_F}{k_Q}. \quad (4.1)$$

Das heißt, dass der Druck ab einem gewissen Schwellenwert keine Rolle mehr spielt und nicht einmal konstant gehalten werden muss. Die Ergebnisse der Messreihen ist in der Abbildung 4-7 dargestellt. Es ist deutlich zu sehen, dass die Graphen nicht den vorhergesagten Verlauf aufweisen. Dementsprechend schlecht sind die Parameter der Anpassung, die in Tabelle 4-1 dargestellt sind. Die Abweichungen vom theoretischen Verhalten lassen sich mit der Arbeitsweise der Photomultiplier erklären. Wenn der Druck steigt, steigt auch die Anzahl der fluoreszierenden NO-Moleküle und damit auch das Maximum der Fluoreszenzin-

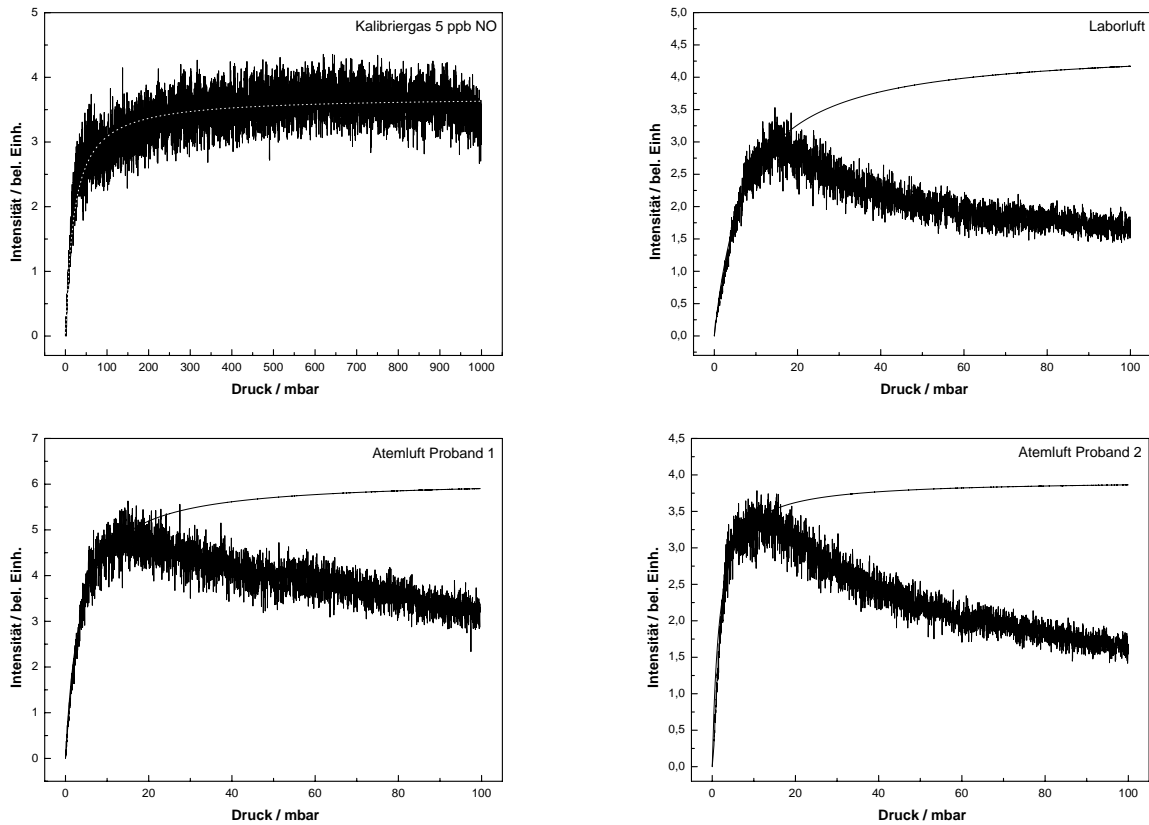


Abb. 4-7: Die gemessene druckabhängige Signalintensität von verschiedenen Gasmischungen.

tensitätsverteilung I_0 (vergleiche hierzu Abbildung 2-24). Mit dem Druck steigt gleichzeitig auch die Fluoreszenzlöschung, das heißt die observierte Fluoreszenzlebensdauer τ_{obs} verkürzt sich. Wenn $k_F \ll k_Q \cdot p$ gilt, so bleibt die Gesamtintensität I_G gleich, aber bei steigendem Druck vergrößert sich I_0 und verkürzt sich τ_{obs} , das heißt die Fluoreszenzabklinkkurve wird bei gleicher Fläche schmäler und höher. Ein solch konzentrierter Lichtpuls ist wiederum vom Photomultiplier nicht beliebig detektierbar. Wenn die maximale Anzahl an Elektronen aus der Photokathode ausgelöst sind, kann das Signal nicht mehr ansteigen. Während die Signalintensität also nicht mehr korrekt wiedergegeben wird, sinkt die Lebensdauer bei steigendem Druck weiter, so dass die gemessene Gesamtintensität I_{obs} bei hohen Drücken abnimmt. Die Abnahme ist abhängig von der Stärke der Fluoreszenzlöschung, es überrascht also nicht, dass das Maximum der Kalibermischung bei wesentlich höheren Drücken auftritt als bei den stärker stoßdeaktivierten Signalen von Atemluft bzw. Laborluft.

Die gemessenen Kurven können so also nicht sinnvoll ausgewertet werden. Stattdessen soll die Tatsache ausgenutzt werden dass die Intensitätsverteilung bei kleinen Drücken eine Gerade beschreibt:

Tab. 4-1: Die aus der Anpassung an die in Abb 4-7 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter.

Parameter	Kalibriergas	Laborluft	Proband 1	Proband 2
A_q	$0,18 \pm 0,01$	$2,1 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$
k_F	$(0,6 \pm 34) \cdot 10^7$	$(0,3 \pm 4,2) \cdot 10^3$	$(0,2 \pm 33) \cdot 10^4$	$(0,3 \pm 9) \cdot 10^3$
k_Q	$(3,1 \pm 17) \cdot 10^6$	$(0,1 \pm 2,2) \cdot 10^3$	$(0,7 \pm 94) \cdot 10^3$	$(0,2 \pm 29) \cdot 10^3$
R^2	0,73	0,91	0,95	0,92

$$I_{obs} = \lim_{A_q \rightarrow 0} \frac{A_q \cdot p \cdot k_F}{k_F + k_Q \cdot p} = A_q \cdot p. \quad (4.2)$$

Dieser lineare Verlauf des Signals entspricht dem Signalverlauf ohne Fluoreszenzlöschung, die erst bei höheren Drücken messbar auftritt. Für die Auswertung werden also die ersten Punkte jeder Messung, die diese Linearität aufweisen, mit einer linearen Regression angepasst. Dann wird das Maximum der Kurve bestimmt und der Wert des Maximums mit dem extrapolierten Wert des Signals ohne Fluoreszenzlöschung verglichen. So wird der Faktor ermittelt, um den das fluoreszenzgelöschte Signal niedriger ist als das nicht fluoreszenzgelöschte. Bei dieser Auswertungsmethode wird sowohl die Fluoreszenzlöschung als auch die Überlastung des Photomultipliers berücksichtigt. Es kann für jeden beliebigen Druck und für jede beliebige Gasmischung ein Faktor bestimmt werden, mit dem das gemessene Signal korrigiert werden kann. Da die meisten gemessenen Signalintensitäten ein Maximum zwischen 10 mbar und 14 mbar aufweisen, werden die Faktoren für einen Druck von 12 mbar berechnet. Diese Auswertungsmethode ist in Abbildung 4-8 illustriert. Die Kalibriermischung hat wie zu erwarten bei 12 mbar keine messbaren Signalverluste, die anderen Messungen wurden jeweils zehn Mal durchgeführt, um durch Mittelwertbildung einen genaueren Verlustfaktor zu erhalten. Die gewonnenen Daten sind in Tabelle 4-2 dargestellt.

Anhand der Standardabweichung lässt sich feststellen, dass diese Methode nur bedingt zu gebrauchen ist. Die große Varianz liegt einerseits in der Veränderlichkeit der Proben, insbesondere der von Atemluft (siehe Abschnitt 4.3.1), andererseits beinhaltet dieser Faktor alle Geräteparameter. Streng genommen müssten also alle Parameter konstant gehalten werden, um die erhaltenen Verlustfaktoren zur Korrektur der Messdaten heranziehen zu können. Es kann aber in guter Näherung davon ausgegangen werden, dass die Varianz der Parameter und die sich daraus ergebende Abweichung der Verlustfaktoren klein gegenüber der Varianz der Proben und der allgemeinen Messunsicherheit liegt. Insofern wird im Folgenden mit den hier vorgestellten Verlustfaktoren gearbeitet.

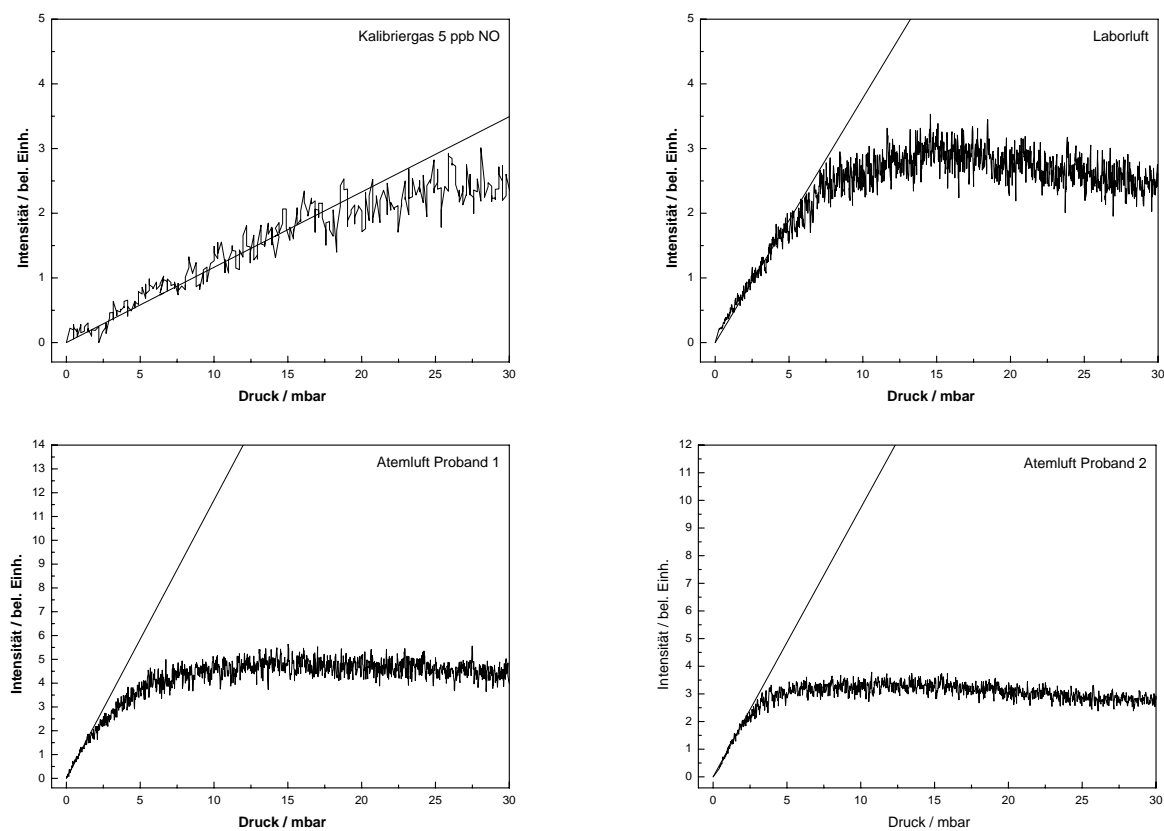


Abb. 4-8: Die gemessene druckabhängige Signalintensität von verschiedenen Gasmischungen.

Tab. 4-2: Relative Intensität (%) bezogen auf das Signal ohne Fluoreszenzlöschung.

Messung	Laborluft	Proband 1	Proband 2
1	0,63	0,34	0,29
2	0,46	0,21	0,19
3	0,41	0,22	0,36
4	0,51	0,31	0,17
5	0,48	0,31	0,15
6	0,39	0,21	0,33
7	0,36	0,22	0,22
8	0,43	0,25	0,19
9	0,47	0,22	0,19
10	0,40	0,27	0,22
Mittelwert	$0,45 \pm 0,077$	$0,26 \pm 0,049$	$0,23 \pm 0,071$

4.1.2.2 Fluoreszenzlöschungskonstanten

Die für die Messungen relevanten Fluoreszenzlöschungskonstanten wurden schon in Abschnitt 2.4 angegeben und zur Berechnung der Nachweisgrenze benutzt. In diesem Teil sollen nun die experimentell bestimmten Fluoreszenzlöschungskonstanten diskutiert werden.

Die Messung von Fluoreszenzlöschungskonstanten beruht auf dem Zusammenhang zwischen dem gelöschten und ungelöschten Signal abhängig von der löschenden Spezies. Dieser Zusammenhang wird durch die Stern-Volmer-Gleichung beschrieben:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV} \cdot c_Q. \quad (4.3)$$

Dabei steht F_0 für die Fluoreszenzintensität ohne Fluoreszenzlöschung, F für die Fluoreszenzintensität mit Fluoreszenzlöschung, K_{SV} für die Stern-Volmer-Konstante und c_Q für die Konzentration der fluoreszenzlöschenden Spezies. Durch Messung der Fluoreszenzintensität bei verschiedenen Konzentrationen kann durch Auftragung von $\frac{F_0}{F}$ gegen c_Q und anschließende lineare Regression die stoffspezifische Stern-Volmer-Konstante K_{SV} ermittelt werden. Über die Beziehung

$$K_{SV} = \tau_{nat} \cdot k_Q \quad (4.4)$$

kann aus der Steigung der Geraden die Fluoreszenzlöschungskonstante berechnet werden. Es sollen die für das Experiment wichtigsten Fluoreszenzlöschungskonstanten ermittelt werden. Dazu wurde bei konstantem Druck und konstanter Wellenlänge die Signalintensität erfasst und die Konzentration schrittweise erhöht. Die relevanten Gase sind Wasser, Kohlenstoffdioxid und Sauerstoff. Die anderen in den Gasmischungen enthaltenen Gase haben entweder sehr geringe Fluoreszenzlöschungskonstanten oder treten in so geringen Konzentrationen auf, dass sie effektiv keine Rolle spielen (vergleiche hierzu die Tabellen 2-7 bis 2-11). Im Experiment wurde eine NO-Mischung (aus NO und Stickstoff), die als nicht fluoreszenzgelöscht angesehen werden kann, mit Volumenströmen der untersuchten Gase vermischt. Bei Wasser wurde die Apparatur so umgebaut, dass die NO-Mischung durch Wasser hindurchgeleitet wurde. Durch Druckänderungen konnten so verschiedene Konzentrationen erreicht werden. Über die Beziehung nach Henry konnten die Konzentrationen berechnet werden. Diese Methode ist ungenauer, deswegen wurden die Daten korrigiert. Die erhaltenen Daten sind in den Graphen 4-9 bis 4-11 visualisiert. Die Ergebnisse der grafischen Auswertung sind Tabelle 4-3 zusammengefasst.

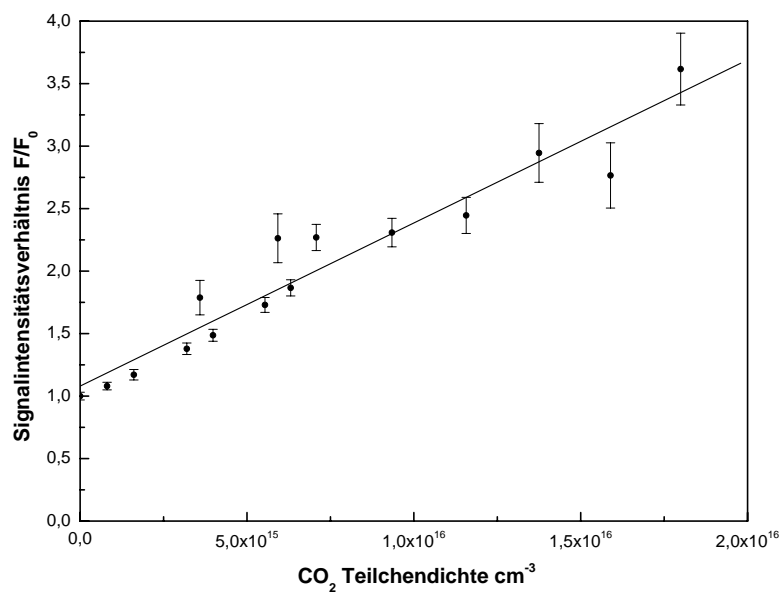


Abb. 4-9: Stern-Volmer Plot zur Ermittlung der Fluoreszenzlöschungskonstante von CO₂.

Tab. 4-3: Experimentell ermittelte Fluoreszenzlöschungskonstanten.

Parameter	CO ₂	O ₂	H ₂ O
$K_{SV} / 10^{-16} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{Molekuel}^{-1}$	$1,30 \pm 0,10$	$0,79 \pm 0,04$	$1,48 \pm 0,03$
Achsenabschnitt	$1,08 \pm 0,09$	$0,99 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,03$
R^2	0,963	0,987	0,998
$k_Q \text{ exp.} / 10^{-10} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{Molekuel}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	$6,34 \pm 0,73$	$3,85 \pm 0,21$	$7,22 \pm 0,26$
$k_Q \text{ lit.} / 10^{-10} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{Molekuel}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	$3,6 \pm 0,1$	$1,41 \pm 0,08$	$7,58 \pm 0,71$
Abweichung	76 %	173 %	5 %

Die recht hohen Abweichungen der Fluoreszenzlöschungskonstanten von Kohlenstoffdioxid und Sauerstoff sind auf Ungenauigkeiten der Massenflussregler zurückzuführen. Die Massenflussregler wurden mit einem Durchfluss betrieben, der zwar für das Experiment unabdingbar war, dafür jedoch eine höhere Messungenauigkeit aufweist als ein hoher Durchfluss.

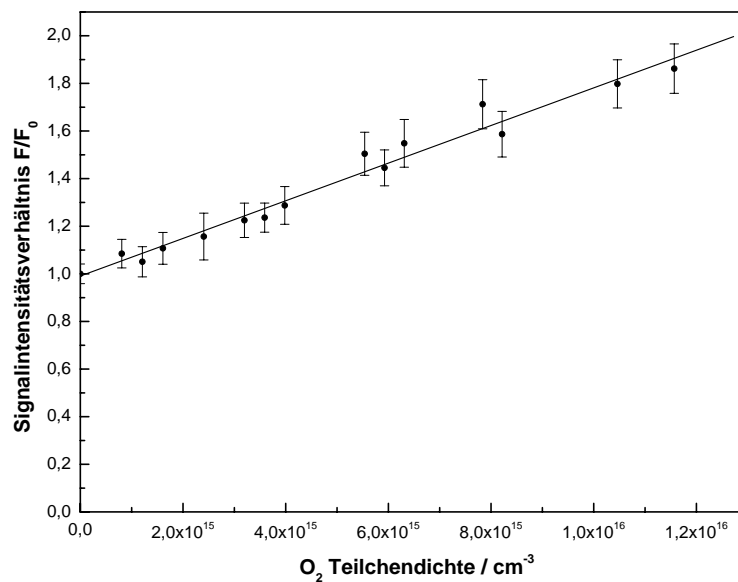


Abb. 4-10: Stern-Volmer Plot zur Ermittlung der Fluoreszenzlöschungskonstante von O_2 .

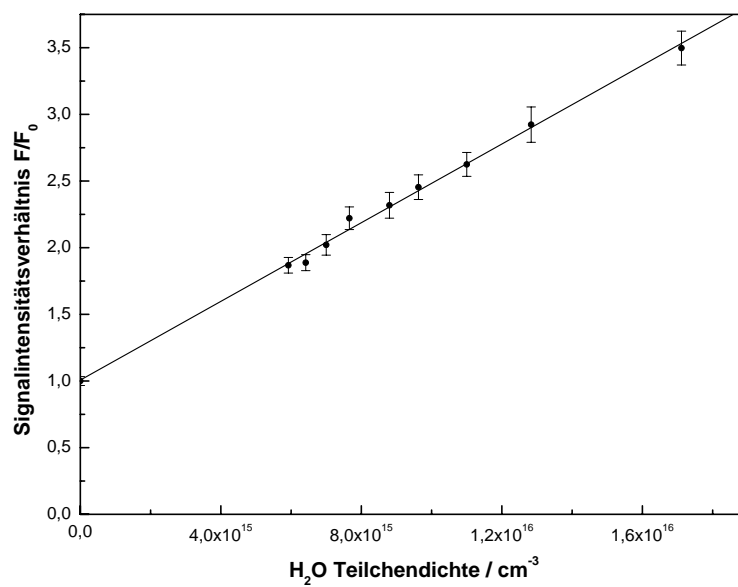


Abb. 4-11: Stern-Volmer Plot zur Ermittlung der Fluoreszenzlöschungskonstante von H_2O .

4.1.2.3 Fluoreszenzlebensdauer

Die natürliche Lebensdauer τ_{nat} lässt sich bestimmen, in dem die druckabhängige, experimentell bestimmbare Lebensdauer τ_{obs} gemessen wird. Die reziproke Form von Gleichung 2.57 gibt diesen Zusammenhang wieder:

$$\frac{1}{\tau_{obs}} = k_Q \cdot p + k_F. \quad (4.5)$$

Wird τ_{obs} bei verschiedenen Drücken gemessen und reziprok aufgetragen, kann durch eine lineare Regression die Fluoreszenzlöschungskonstante k_Q und die natürliche Lebensdauer $\frac{1}{k_F}$ bestimmt werden.

Im Experiment wurde die Messzelle mit Drücken zwischen 5 mbar und 100 mbar befüllt. Bei konstantem Druck wurde die Fluoreszenzlebensdauer gemessen, in dem die Fluoreszenzintensität mit dem Oszilloskop (LeCroy 9400, 125 MHz Bandbreite) über 1000 Laserpulse gemittelt wurde und dann visuell auf dem Monitor die Zeit bestimmt wurde, in der das Signal auf $\frac{1}{e}$ der Maximalintensität abfällt. Die Ablesegenauigkeit wird mit 5 % angenommen. Es wurde Laborluft bei 299 K und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 41 % vermessen. Der Wassergehalt betrug also 1,57 %, für die restlichen Bestandteile der Luft wird Tabelle 2-9 herangezogen. Die Ergebnisse dieser Messreihe sind in Abbildung 4-12 dargestellt.

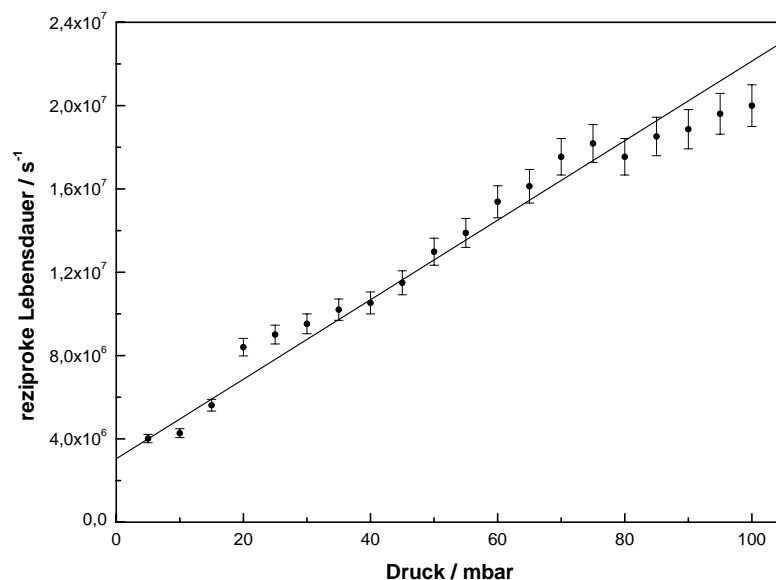


Abb. 4-12: Die experimentell bestimmte druckabhängige Fluoreszenzlebensdauer. Die Daten wurden visuell erfasst.

Die grafische Auswertung führt zu einer natürlichen Lebensdauer von $328 \pm 15 \text{ ns}$. Die Parameter der linearen Regression sind in Tabelle 4-4 zusammengefasst. Verglichen mit Li-

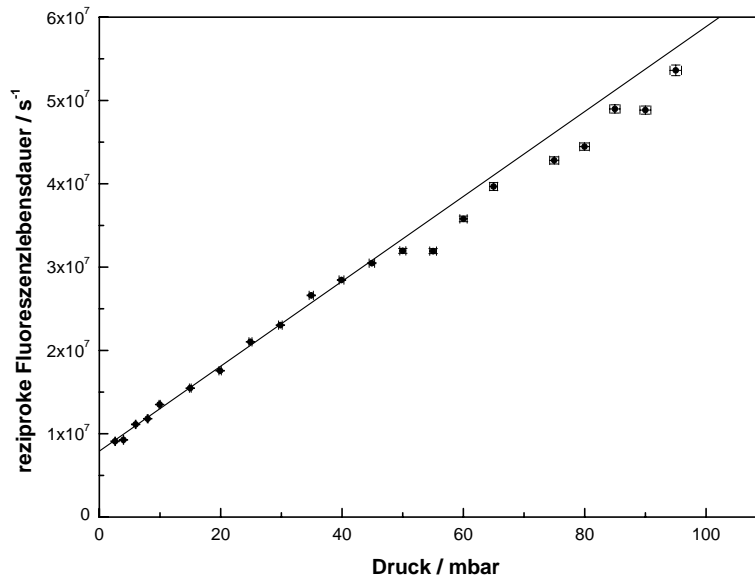


Abb. 4-13: Die experimentell bestimmte druckabhängige Fluoreszenzlebensdauer. Die Messpunkte resultieren aus einer Anpassung an detektierte Fluoreszenzabklingkurve.

teraturdaten von τ_{nat} , die sich in einem Bereich von 187 ns bis 218 ns bewegen, ist die hier ermittelte Lebensdauer viel zu hoch.[43, 71, 72, 101, 102] Verantwortlich hierfür ist wieder der Photomultiplier (siehe Abschnitt 4.1.2.1), weil bei hohen Drucken eine Übersättigung auftritt und das Signal niedriger dargestellt wird, als es tatsächlich ist. Der Photomultiplier benötigt außerdem eine gewisse Zeit, um das auftretende Licht zu verstärken, gerade beim Abklingen der Spannung erfährt das Signal dabei eine Verbreiterung. Je kürzer die Zeit ist, umso größer ist die prozentuale Verbreiterung. Dazu kommt die Tatsache, dass das Signal, was am Oszilloskop zu sehen ist, nicht exakt einer exponentiellen Abklingkurve entspricht, sondern abhängig vom Anregungspuls ist (siehe Abschnitt 2.4). Diese Fehlerquellen verdeutlichen, dass eine Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer nur unbefriedigend mit der oben vorgestellten Methode durchgeführt werden kann.

Um die Fluoreszenzlebensdauer genauer bestimmen zu können, wurde eine zweite Versuchsreihe durchgeführt. Die Zelle wurde im Gasfluss betrieben. Die Spannung am Photomultiplier wurde mit 700 V so niedrig wie möglich gehalten, um Sättigungseffekte weitestgehend zu vermeiden. Die erhaltenen Fluoreszenzabklingkurven wurden mit einem digitalen Speicheroszilloskop mit hoher Bandbreite (LeCroy Waverunner 6050, 500 MHz Bandbreite) gespeichert und mit Gleichung 2.68 angepasst. Die so erhaltenen Daten wurden gemittelt und analog zu Gleichung 4.5 aufgetragen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4-13 dargestellt.

Alle aus den Messungen erhaltenen Parameter sind in Tabelle 4-4 zusammengefasst. Die zweite Methode führt zu einer Lebensdauer von $126,3 \pm 0,34 \text{ ns}$. Dieser Wert zeigt zwar eine geringere Abweichung, ist aber dennoch unbefriedigend. Die Abweichung liegt trotz der ge-

Tab. 4-4: Die aus der Anpassung an die in den Abbildungen 4-12 und 4-13 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter.

Parameter	Messung 1	Messung 2	Literaturdaten
$k_F / 10^6 \cdot s^{-1}$	$3,045 \pm 0,143$	$7,917 \pm 0,002$	$4,88 \pm 0,17$
$k_Q / 10^5 \cdot s^{-1} \cdot mbar^{-1}$	$1,909 \pm 0,0423$	$5,094 \pm 0,010$	$11,4 \pm 0,4$
τ_{nat} / ns	328 ± 15	$126,31 \pm 0,34$	$205 \pm 7[71]$
R^2	0,988	0,997	-

ringen Spannung an einer Übersättigung des Photomultipliers. Auch LUQUE *et al.* berichten von einer Abhängigkeit der messbaren Fluoreszenzlebensdauer vom Photomultipliermodell und Betriebsspannung.[71] Sehr ungenau sind bei beiden Messungen auch die Fluoreszenzlöschungskonstanten. Neben der Tatsache, dass die Steigung der Ausgleichsgeraden von den Übersättigungen des Photomultipliers verändert werden, ist die Zusammensetzung der Laborluft und somit die effektive Fluoreszenzlöschungskonstante absolut nicht genau bestimmbar. Eine absolute Bestimmung der Fluoreszenzlöschungskonstanten und der Fluoreszenzlebensdauer ist für die Arbeitsweise der Apparatur nicht notwendig. Es geht vielmehr darum, die relative Signalabschwächung genauer zu verstehen, um das System besser kalibrieren zu können (siehe Abschnitt 4.2).

4.1.3 Signal-zu-Rausch-Verhältnis

Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis ist ein messbarer Gütegrad der Messungen und außerdem eine Möglichkeit, die Detektionsgrenze zu extrapolieren. Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis ist definiert als der Quotient aus der Signalintensität S und dem Hintergrundrauschen N :

$$\frac{S}{N} = \frac{\bar{M}}{s_E}. \quad (4.6)$$

Dabei ist \bar{M} der Mittelwert der Messpunkte und s_E die Standardabweichung. Je höher das Signal-zu-Rausch-Verhältnis ist, desto präziser ist die Messung, allerdings sagt der Wert des Signal-zu-Rausch-Verhältnis noch nichts über die Genauigkeit der Messung aus.¹ Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis hängt von vielen Parametern des Experiments ab, zum Beispiel der Laserenergie, der Photomultiplierspannung und der Boxcareinstellung. Besonders die Photomultiplierspannung beeinflusst das Signal-zu-Rausch-Verhältnis, da mit zunehmender Spannung die Dunkelpulse ansteigen. Es soll im Folgenden also festgestellt werden, wie

¹Der Definition nach ist die Genauigkeit die Lage des Messwertes am tatsächlichen Wert, während die Präzision die Reproduzierbarkeit beschreibt, also die Verteilung der Messwerte um den tatsächlichen Wert.

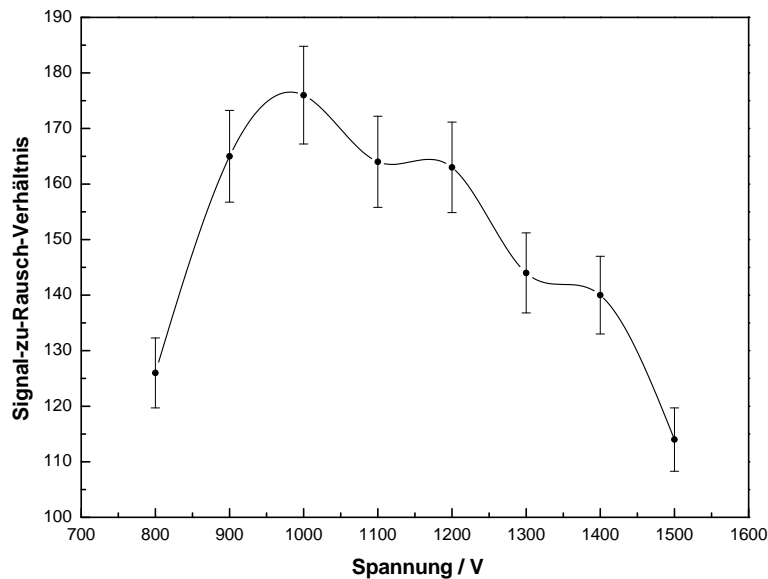


Abb. 4-14: Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei starken Signalen, abhängig von der Photomultiplier-Spannung. Zur besseren Übersicht wurden die Messpunkte mit einem Spline verbunden.

der Einfluss der Photomultiplier-Spannung auf das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu bewerten ist.

Experimentell wurde eine Gasmischung von 250 ppt NO in Stickstoff mit 1000 sccm durch die Messzelle geleitet. Der Druck wurde konstant bei 12 mbar gehalten. Dann wurde das Signal bei konstanter Wellenlänge und verschiedenen Photomultiplier-Spannungen gemessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4-14 dargestellt.

Die genauesten Messungen lassen sich also bei einer Photomultiplier-Spannung von etwa 1060 V aufnehmen. Allerdings ist zu beachten, dass bei besonders hohen Signalen der Photomultiplier bei hohen Spannungen überlastet wird, während er bei sehr niedrigen Signalen hohe Spannungen benötigt, um überhaupt messbare Ergebnisse zu produzieren. Es ist also erforderlich, je nach untersuchter Gasmischung, den Photomultiplier in einem Spannungsbereich zu betreiben, der ein nicht optimales Signal-zu-Rausch-Verhältnis beinhaltet, besonders beim Vermessen von ^{15}NO ist eine höhere Spannung unumgänglich.

Die zweite Bestimmung des Signal-zu-Rausch-Verhältnis betrifft den Abschlusswiderstand des Boxcar Integrators. Dieser ist standardmäßig mit 1 M Ω abgeschlossen. Wenn ein schnelles Signal zeitlich aufgelöst werden muss, dann muss der Boxcar mit einem wesentlich kleineren Abschlusswiderstand abgeschlossen werden, üblicherweise 50 Ω . Wenn in diesem Experiment der interne Abschlusswiderstand von 1 M Ω verwendet wird, so verlängert sich die Signalspannung des Photomultipliers auf 1,5 ms, das heißt es kann höchstens mit einer Wiederholfrequenz von etwa 600 Hz gearbeitet werden, ohne dass es zu Überschneidungen der

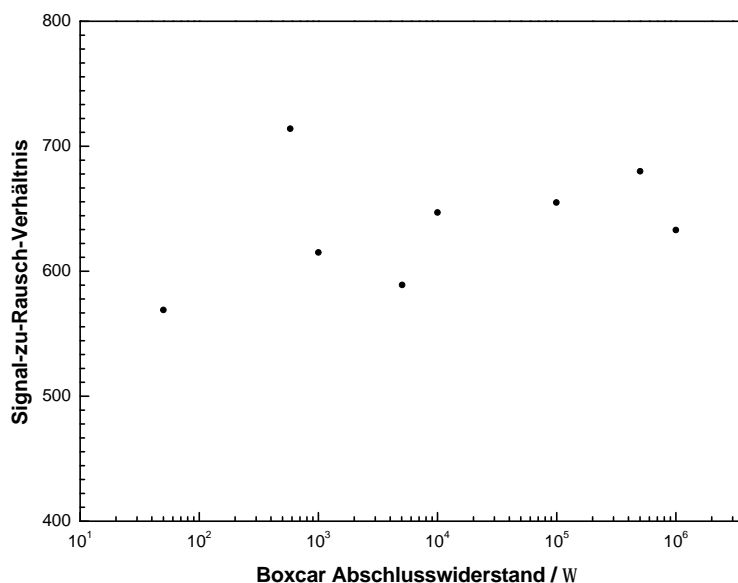


Abb. 4-15: Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei starken Signalen, abhängig vom Boxcar Abschlusswiderstand.

Signale kommt. Da der Excimer-Laser maximal 50 Hz erzeugen kann, kann das Experiment prinzipiell mit 1 M Ω Abschlusswiderstand durchgeführt werden. Bei höheren Abschlusswiderständen ist sowohl die Signalintensität als auch die Abklingzeit höher. Zwar kann der Boxcar maximal 16 μ s Signal aufintegrieren, trotzdem liegt die Abschätzung nahe, dass ein hoher Widerstand auch eine höhere Signalintensität zur Folge hat, was dem Experiment zu gute kommen würde. Allerdings wird auch das Rauschen höher, so dass jetzt abgeschätzt werden soll, bei welchem Abschlusswiderstand das beste Signal-zu-Rausch-Verhältnis vorliegt.

Dazu wurde eine Gasmischung von 250 ppm NO in Stickstoff mit 10 sccm durch die Messzelle geleitet. Der Druck wurde konstant bei 12 mbar gehalten, die Spannung des Photomultipliers betrug 500 V. Dann wurden bei konstanter Wellenlänge das Signal bei verschiedenen Abschlusswiderständen gemessen. Die Integrationszeit wurde den Abklingzeiten angepasst. Ab 5 k Ω betrug sie 15 μ s. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4-15 dargestellt.

Einerseits zeigt der Graph keine aussagekräftigen Zusammenhang zwischen dem Abschlusswiderstand und dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis, andererseits sind die erhaltenen Signal-zu-Rausch-Verhältnisse extrem hoch, so dass die Unterschiede kaum ins Gewicht fallen. Es kann also geschlussfolgert werden, dass bei starken Signalen der Abschlusswiderstand vom Boxcar keine entscheidende Rolle spielt. Wie aber ist es mit schwachen Signalen, etwa der Stärke von Atemluft oder darunter? Um dies festzustellen, wurde eine zweite Versuchsreihe durchgeführt. Dabei wurden 250 ppt NO in Stickstoff bei 12 mbar und 1000 sccm untersucht. der Photomultiplier wurde bei 1300 V betrieben, um das wesentlich schwächere Signal de-

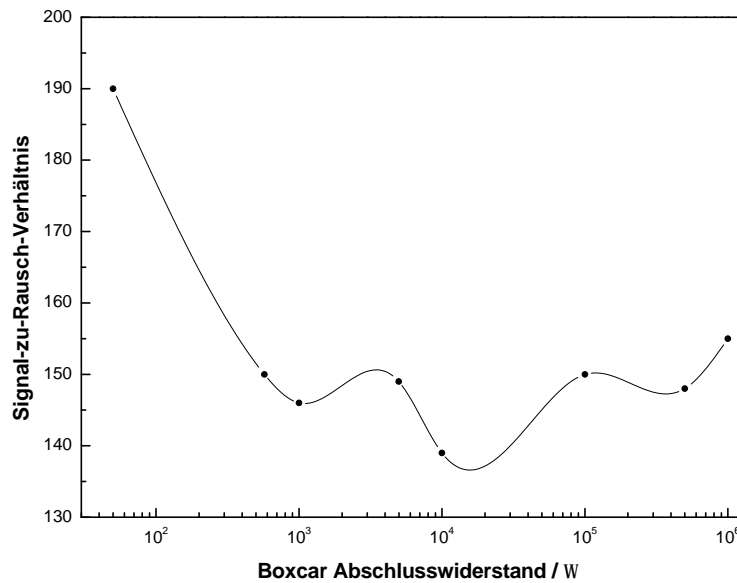


Abb. 4-16: Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei schwachen Signalen, abhängig vom Boxcar Abschlusswiderstand. Zur besseren Übersicht wurden die Messpunkte mit einem Spline verbunden.

tektieren zu können. Die verwendeten Integrationszeiten sind analog zum Vorversuch. Die ermittelten Daten sind in Abbildung 4-16 dargestellt.

Auffällig sind der stark veränderte Kurvenverlauf sowie die viel kleineren numerischen Werte des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses. Letzteres beruht auf der viel geringeren Signalintensität, gepaart mit einem höheren Rauschen durch Dunkelpulse, die bei der verwendeten Photomultiplier-Spannung vermehrt auftreten. Aus der Verteilung der Messpunkte kann geschlossen werden, dass ein geringer Abschlusswiderstand für die Messungen am sinnvollsten ist. Es wird daher mit einem $50 \, \Omega$ Widerstand gearbeitet.

4.1.3.1 Nachweisgrenze

Die praktische Nachweisgrenze der Apparatur ist die NO-Konzentration, die ein analytisches Signal S liefert, das um den Faktor k höher ist als das Hintergrundrauschen N , es gilt:

$$S = k \cdot N. \quad (4.7)$$

Wenn von einem linearen Zusammenhang der Signalintensität S von der Konzentration c mit der Steigung m ausgegangen werden kann, dann ist die minimal nachweisbare Konzentration c_{min} definiert als

$$c_{min} = \frac{k \cdot N}{m}. \quad (4.8)$$

Der Faktor k wird üblicherweise mit 2 oder 3 angegeben. In dieser Arbeit soll die Bedingung $k = 2$ für das Detektionslimit angewendet werden.[99]

Um die Nachweisgrenze experimentell zu bestimmen, muss eine Verdünnungsreihe vermessen werden. Die Auswertung erfolgt durch eine Auftragung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses gegen die Konzentration. Die Nachweisgrenze ist erreicht, wenn das Signal-zu-Rausch-Verhältnis genau 2 ist. Abbildung 4-17 zeigt die Auswertung der Verdünnungsreihe, es ergibt sich eine Nachweisgrenze von $3,7 \pm 0,33 \text{ ppt}$.

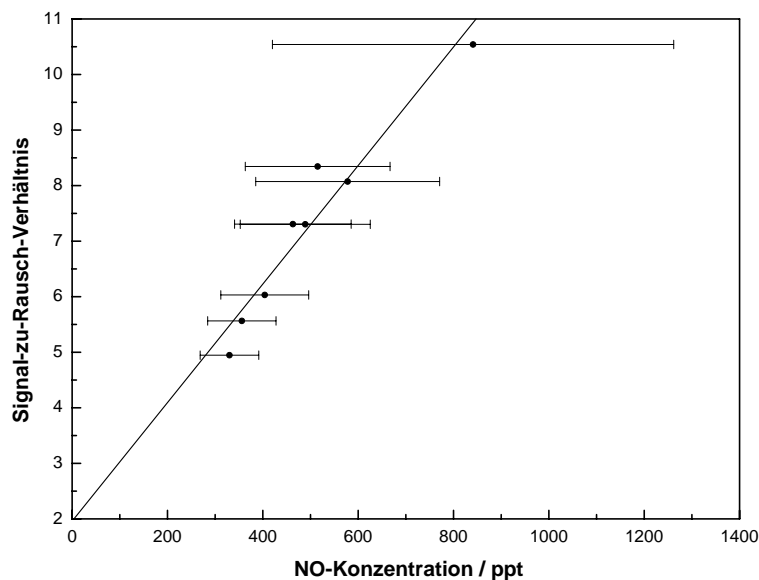


Abb. 4-17: Die experimentell ermittelte Nachweisgrenze.

Anhand der Fehler ist zu erkennen, dass diese praktische Bestimmung der Detektionsgrenze nur bedingt zu gebrauchen ist. Zum Einen ist es oft nicht möglich, sehr kleine Konzentrationen bei konstanter Wellenlänge zu messen, da die Qualität der Signale nicht direkt beurteilt werden kann, es werden also Spektren aufgenommen. Um das Signal zu mitteln und damit das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu bestimmen, werden diese Spektren mehrmals aufgenommen. Dieser Vorgang ist wesentlich zeit- und arbeitsintensiver, so dass weniger Einzelmessungen zur Verfügung stehen. Dementsprechend ist die Standardabweichung der Daten im Vergleich zu ^{14}NO Spektren, die bei konstanter Wellenlänge aufgenommen werden, ungleich höher, was durch eine höhere Anzahl der Dunkelpulse wegen der höheren Betriebsspannung noch verstärkt wird. Zum Anderen ist es umstritten, wie genau Konzentrationen im ppt-Bereich hergestellt werden können. Der angegebene Fehler beruht auf einer Fehlerfortpflanzung der angegebenen Abweichungen der Gasmischung und der verwendeten Massenflussregler. Bei

sehr kleinen Konzentrationen können Absorptionen bzw. Desorptionen starke Schwankungen hervorrufen.

4.1.3.2 Signalmittelung

Durch eine Durchschnittsberechnung kann der Fehler einer Messreihe minimiert werden. Im Allgemeinen gilt: je länger ein Signal gemittelt wird, desto präziser wird es. Abweichungen von dieser Regel werden dann beobachtet, wenn sich ein oder mehrere Parameter bei einer Messung verändern. Dann kann unter Umständen der Fehler der Messreihe wieder ansteigen, so dass es sinnvoll ist, nur über eine bestimmte Anzahl von Punkten zu mitteln. Die Kenntnis der optimalen Mittelungszeit kann außerdem Zeit sparen. Die Mittelungszeit, die die höchste Präzision verspricht, kann über die Methode der Paarvarianz nach ALLAN bestimmt werden.[103–105]

Die Methode beruht auf der Mittelwertbildung aufeinanderfolgender Messpunkte x_i und x_{i+k} und anschließender Berechnung der Paarvarianz σ_x . Die Besonderheit ist die Einführung der Variablen k , so dass immer mehr Werte gemittelt werden, bis die Paarvarianz nur noch aus zwei Werten bestimmt wird. Für eine Messreihe mit den Werten x_1 bis x_n ergibt sich für die Berechnung des Mittelwerts:

$$x_i^k = \frac{1}{k} \sum_{j=i}^{i+k-1} x_j. \quad (4.9)$$

Die Paarvarianz ist definiert als

$$\sigma_x(t, n) = \sqrt{\frac{1}{2 \cdot (n - 2 \cdot k + 1)} \sum_{i=1}^{n-2 \cdot k+1} (x_{i+k}^k - x_i^k)^2}. \quad (4.10)$$

Die so berechneten zeitabhängigen² Paarvarianzen werden schließlich doppeltlogarithmisch gegen die Zeit aufgetragen. Die so erhaltene Kurve weist ein Minimum auf, welches die optimale Mittelungszeit für das System darstellt. Im Experiment wurde eine Kalibriergasmischung bei konstanten Parametern und konstanter Wellenlänge über mehrere Stunden vermessen. Es wurde je eine Messreihe für die Referenzzelle sowie für die Messzelle durchgeführt. Die gewonnenen Daten wurden mit dem Computerprogramm *AlaVAR* 5.2[106] ausgewertet,

²Es wird davon ausgegangen, dass jede Messung die Zeit t_i in Anspruch nimmt und die Zeit zwischen zwei Messungen vernachlässigbar klein ist.

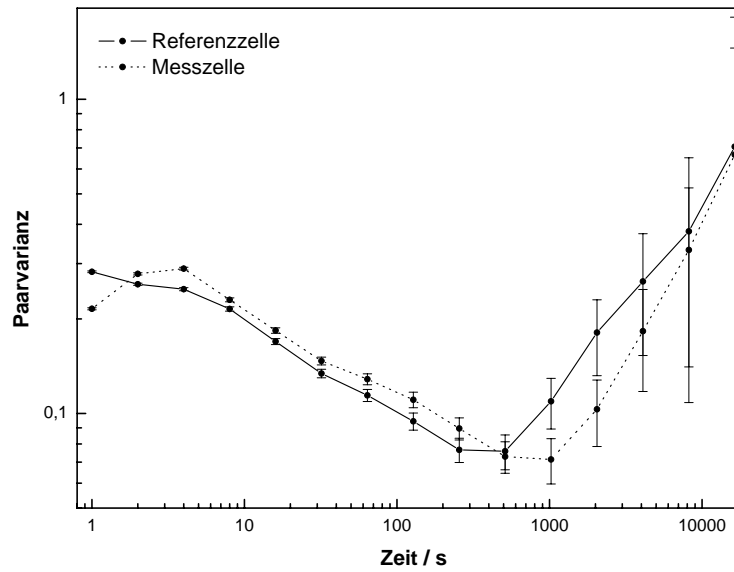


Abb. 4-18: Darstellung der ALLAN-Varianz in Abhängigkeit von der Mittelungszeit.

dass eine automatische Berechnung der Paarvarianz nach Gleichung 4.10 ermöglicht. Die so erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 4-18 dargestellt.

Die grafische Auswertung ergibt eine optimale Mittelungszeit von 1000 s für die Messzelle bzw. 500 s für die Referenzzelle. Längere Mittelungszeiten machen nach dieser Theorie keinen Sinn. Der Grund für die Verschlechterung der Paarvarianz ist die abnehmende Laserintensität sowie eine mit der Zeit zunehmende Erblindung der Photomultiplier.

4.1.4 Laserlinienbreite

Wie in Abschnitt 2.6 schon erwähnt wurde, ist die Bandbreite des Anregungslaserpulses entscheidend für die Güte des Spektrums, da bei gleicher Anregungsenergie eine Linienverbreiterung automatisch auch eine Intensitätsverringering und damit eine Verschlechterung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses bedeutet. Diese Tatsache ist besonders bei ^{15}NO -Spektren entscheidend, da hier zusätzlich eine Überlagerung der Peaks durch ^{14}NO -Linien droht. Es soll nun anhand von gemessenen Spektren die Laserlinienbreite berechnet und diskutiert werden.

Abbildung 4-19 zeigt die experimentell bestimmte Linienbreite anhand des Übergangs $Q_{22-}(12, 5)/R_{12}(12, 5)$, der mit einer Gaußschen Glockenkurve in der Form

$$y = y_0 + \frac{A_g}{w \cdot \sqrt{\frac{\pi}{2}}} \cdot e^{-\frac{2 \cdot (x-x_c)^2}{w^2}} \quad (4.11)$$

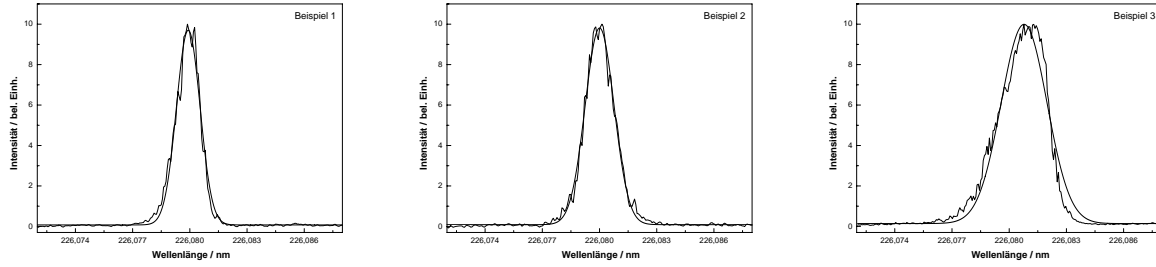


Abb. 4-19: Die gemessene Linienbreite.

Tab. 4-5: Die aus der Anpassung an die in der Abbildung 4-19 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter.

Parameter	Beispiel 1	Beispiel 2	Beispiel 3
y_0	$0,073 \pm 0,019$	$0,086 \pm 0,014$	$0,14 \pm 0,04$
x_c / nm	$226,08 \pm 6,0 \cdot 10^{-6}$	$226,08 \pm 5,1 \cdot 10^{-6}$	$226,08 \pm 2 \cdot 10^{-5}$
w / nm	$(1,24 \pm 0,01) \cdot 10^{-3}$	$(1,51 \pm 0,1) \cdot 10^{-3}$	$(2,4 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$
A_g	$(1,5 \pm 0,01) \cdot 10^{-2}$	$(1,84 \pm 0,01) \cdot 10^{-2}$	$(2,97 \pm 0,04) \cdot 10^{-2}$
R^2	0,987	0,993	0,973
$\Delta\nu_{obs} / s^{-1}$	$(1,71 \pm 0,01) \cdot 10^{10}$	$(2,08 \pm 0,01) \cdot 10^{10}$	$(3,31 \pm 0,04) \cdot 10^{10}$
$\Delta\nu_L / s^{-1}$	$(1,68 \pm 0,01) \cdot 10^{10}$	$(2,06 \pm 0,01) \cdot 10^{10}$	$(3,30 \pm 0,04) \cdot 10^{10}$

angepasst wurde. Dabei wurde bewusst eine breite Linie mitberücksichtigt (Beispiel 39. So wird verdeutlicht, dass eine schlechte Justierung des Farbstofflasers sowohl die Breite als auch die Form der Linien beeinflusst. Die Ergebnisse der Anpassungen sind in Tabelle 4-5 zusammengefasst. Die Halbwertsbreite der Normalverteilung entspricht dem $\Delta\nu_{obs}$ in Gleichung 2.78, durch Umstellen der Gleichung kann die Laserlinienbreite berechnet werden:

$$\Delta\nu_L = \sqrt{\Delta\nu_{obs}^2 - \Delta\nu_N^2 - \Delta\nu_C^2 - \Delta\nu_D^2}. \quad (4.12)$$

Verglichen mit den in Abschnitt 2.6 genannten Mindestanforderungen ist so erkennbar, dass die Laserlinienbreiten der Beispiele 1 und 2 ausreichend sind, um ^{15}NO ohne Schwierigkeiten nachweisen zu können, während bei Beispiel 3 die ^{15}NO -Übergänge schon teilweise von den ^{14}NO -Übergängen überlagert werden, was die ^{15}NO -Detektion erheblich erschwert. Die Laserlinienbreite wurde im Experiment zwischen 17 GHz und 20 GHz gehalten, was einen guten Kompromiss zwischen der Pulsenergie, dem Strahlenprofil und der Peakbreite darstellt.

4.1.5 Einfluss verschiedener Bauteile auf die Messungen

Viele in der Apparatur verwendete Bauteile haben einen direkten oder indirekten Einfluss auf die Qualität bzw. Quantität des Fluoreszenzsignals. Um genaue und präzise Messungen durchführen zu können, müssen diese Einflüsse bekannt sein. Die meisten dieser Einflüsse sind vernachlässigbar, sofern die Versuchsbedingungen gleich gehalten werden können. Es soll im Folgenden diskutiert werden, welche Bauteile welchen Einfluss auf die Messungen haben und inwiefern dieser Einfluss minimiert bzw. berücksichtigt werden kann.

4.1.5.1 Das Lasersystem

Es wurde schon in Abschnitt 2.2.3 erwähnt, dass die Intensität des Laserpulses in einem direkten Zusammenhang zur Signalintensität steht. Dabei kann davon ausgegangen werden, dass bis zur Sättigungsgrenze eine hohe Photonendichte zu einem hohen Signal beiträgt, trotz der zunehmenden Abschwächung durch induzierte Emissionen. Wird die Sättigungsgrenze deutlich überschritten, dann bleibt die Signalintensität konstant. Für die Berechnung der Nachweisgrenze wurde eine Pulsenergie von $500 \mu J$ angenommen, tatsächlich wurden Energien von $300 \mu J$ bis $800 \mu J$ pro Puls gemessen. Die Pulsenergie unterliegt einer gewissen Varianz und nimmt an einem Versuchstag kontinuierlich ab. Das Lasersystem kann ca. 6 Stunden am Tag betrieben werden, bis ein merklicher Abfall der Intensität zu verzeichnen ist. Die Schwankungen der Pulsenergie und der zeitabhängige Energieabfall ist beim Excimer-Laser stark an die Wiederholfrequenz gebunden, Abbildung 4-20 verdeutlicht diesen Zusammenhang.

Bei höheren Wiederholraten wird der Laserpuls einerseits schwächer, andererseits nimmt die Pulsenergie mit der Zeit stärker ab. Frequenzen oberhalb von 10 Hz eignen sich daher nicht, um lange Versuchsreihen durchzuführen. In Extremfällen wurde der Excimer-Laser kurzzeitig mit 20 Hz bzw. 50 Hz betrieben, um bei Online Messungen von Atemluft eine hohe Zeitauflösung zu erreichen (siehe Abschnitt 4.3). Normalerweise wurde eine Wiederholfrequenz von 5 Hz verwendet, die einen guten Kompromiss zwischen Intensität, Stabilität und Aussagekraft der Messungen verspricht.

Der Anregungspuls hat eine Leistungs-Abweichung von 8 %, gemessen hinter der Frequenzverdoppelungseinheit und dem Pellin-Broca-Prisma. Dazu kommt ein Intensitätsverlust von etwa 20 % bei einer Betriebsdauer von 6 Stunden.

Neben der Pulsenergie sind außerdem noch die räumliche Intensitätsverteilung, die Bandbreite und der Strahlengang durch die Zellen von Bedeutung. Der Einfluss der Bandbreite wurde schon im Abschnitt 4.1.4 diskutiert. Die räumliche Intensitätsverteilung und der Strahlen-

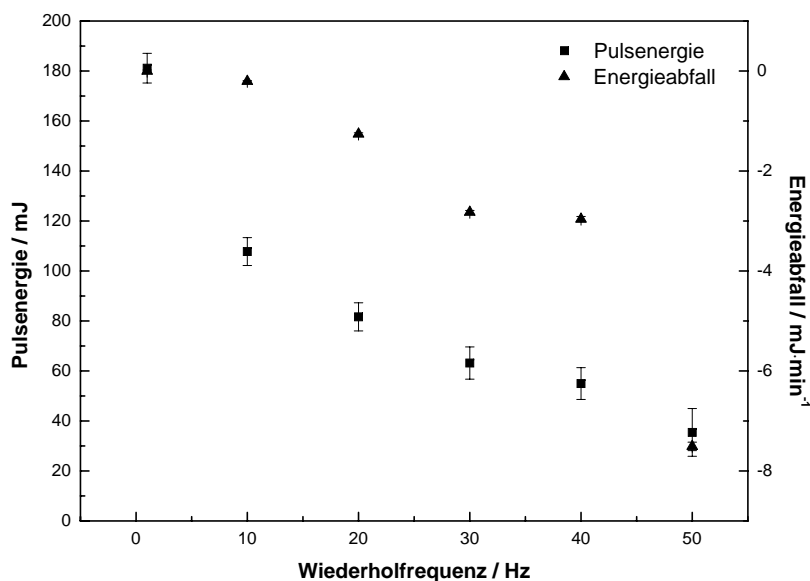


Abb. 4-20: Die frequenzabhängige Leistung des Excimer-Lasers.

Tab. 4-6: Die aus der Anpassung an die in der Abbildung 4-21 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter

Parameter	1P28	R3788
m	$0,81 \pm 0,14$	$0,77 \pm 0,04$
b	-281 ± 67	-519 ± 36
R^2	0,897	0,987

gang des Laserpulses sind schwer zu erfassen, deswegen dient das Referenzsignal als Hinweis auf eine Veränderung des Anregungspulses, ohne eine konkrete Information zu liefern, welche Parameter sich verändert haben.

4.1.5.2 Die Photomultiplier

Es ist nicht immer möglich, die Spannung des Photomultipliers bei umfangreichen Versuchsreihen konstant zu halten. Dementsprechend ist es sinnvoll, die spannungsabhängige Signalintensität experimentell zu ermitteln. Abbildung 4-21 zeigt die Ergebnisse für die verwendeten Photomultiplier. Die Ergebnisse der Anpassung sind in Tabelle 4-6 zusammengefasst.

Die Ergebnisse sagen aus, dass in einem gewissen Spannungsbereich die Signalintensität und die Dynodenspannung in einem linearen Zusammenhang zueinander stehen. Bei sehr hohen bzw. sehr niedrigen Spannungen ist dieser Zusammenhang nicht gegeben. Während der in der Messzelle verwendete Photomultiplier Hamamatsu R3788 sehr gut mit der angepassten Gerade übereinstimmt, ist die Abweichung beim 1P28 ungleich höher. Dies liegt an dem überprüften Spannungsbereich, da aber die Konzentration in der Referenzzelle konstant gehalten

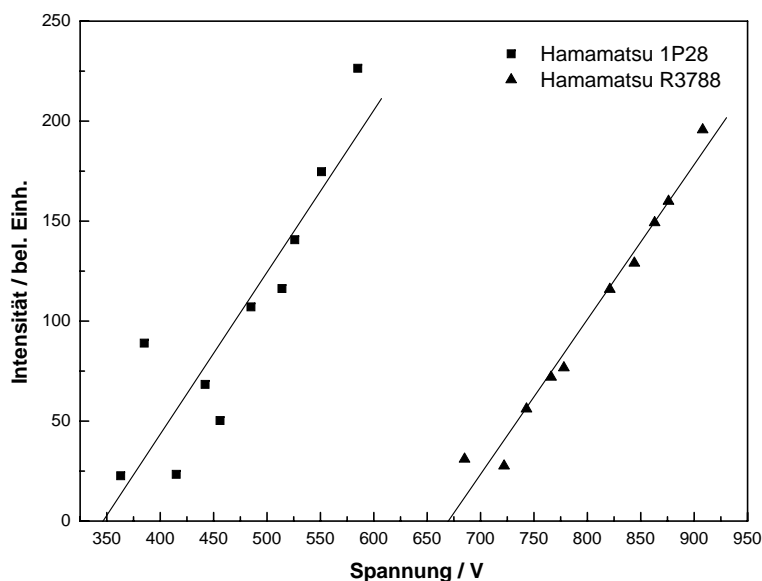


Abb. 4-21: Die spannungsabhängige Signalintensität der verwendeten Photomultiplier.

wird, ist eine Spannungsänderung nicht notwendig. Mit Hilfe der hier vorgestellten Daten kann eine Signalveränderung, die aus einer notwendigen Spannungsänderung resultiert, rechnerisch ausgeglichen werden. Dieser Vorgang ist allerdings mit einer Unsicherheit behaftet, so dass vergleichbare Messungen möglichst mit der gleichen Dynodenspannung durchgeführt wurden.

4.1.5.3 Die Spannungsquellen

Die Spannungsquellen, die zum Betrieb der Photomultiplier verwendet werden, müssen über einen langen Zeitraum genau und präzise arbeiten, da die Photomultiplierspannung in direktem Zusammenhang zur gemessenen Signalintensität steht (siehe oben). Zu diesem Zweck wurde die Spannung der Messgeräte über mehrere Stunden vermessen. Die Ergebnisse dieser Messung sind in Tabelle 4-7 dargestellt.

Tab. 4-7: Die zeitabhängige Varianz der Spannungsquellen.

Parameter	500 V	1000 V	1500 V
$m / V \cdot \text{min}^{-1}$	$(6,05 \pm 0,36) \cdot 10^{-4}$	$(4,91 \pm 0,06) \cdot 10^{-3}$	$(3,87 \pm 0,10) \cdot 10^{-3}$
b / V	$500,02 \pm 0,001$	$1000,2 \pm 0,002$	$1500,1 \pm 0,003$
R^2	0,897	0,987	0,981

Die Ergebnisse zeigen, dass die Spannungsquellen keinen signifikanten Einfluss auf die Messungen haben. Der einzige Unsicherheitsfaktor liegt in der ungenau ablesbaren Analoganzeige

der eingestellten Spannung. Die tatsächliche Spannung wurde deswegen immer mit einem Multimeter nachgemessen.

4.1.5.4 Der Boxcar Integrator

Hier soll gezeigt werden, dass der Boxcar Integrator sowohl genau als auch präzise arbeitet. Dabei geht es einerseits um die generelle Signalaufnahme bei konstanten Bedingungen und andererseits um die Frage, ob die Boxcar Sensitivität linear verläuft. Zuerst wurde dazu das konstante Ausgangssignal des Pulsgenerators an den Boxcar angeschlossen und an 6 Versuchstagen mehrmals jeweils 10 Minuten lang bei 5 Hz vermessen. Die Varianz der Einzelmessungen liegt bei 0,06 % und ist damit vernachlässigbar. Die Abweichungen der Einzelmessungen an einem Versuchstag liegt bei durchschnittlich 0,54 %. Die Varianz über alle Versuchstage beträgt 0,91 % und ist damit im Vergleich zur Schwankung der Laserenergie und der Photomultiplier-Ausgangsspannung so klein, dass sie nicht berücksichtigt werden muss. Die Ergebnisse der Messungen sind in Abbildung 4-22 dargestellt.

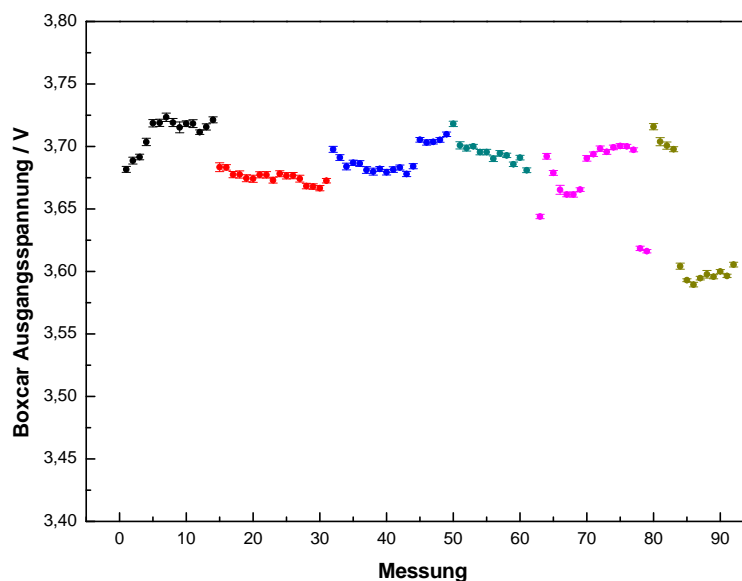


Abb. 4-22: Die Signalantwort des Boxcar Integrators bei einem konstanten Eingangssignal. Die Farben kennzeichnen die verschiedenen Versuchstage.

Alsdann wurde getestet, wie sich ein konstantes Signal in Abhängigkeit der Boxcarsensitivität verhält. Dazu wurde eine NO-Mischung bei konstanten Bedingungen vermessen und die Boxcarsensitivität während der Messung verändert. Die so erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 4-23 dargestellt. Es wurde eine reziproke Auftragung gewählt, die den linearen Zusammenhang verdeutlicht. Mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,9997 und einer Standardabweichung von 0,044 kann davon ausgegangen werden, dass eine Umstellung der Boxcarsensitivität keine Beeinträchtigung der Präzision bzw. der Genauigkeit nach sich zieht.

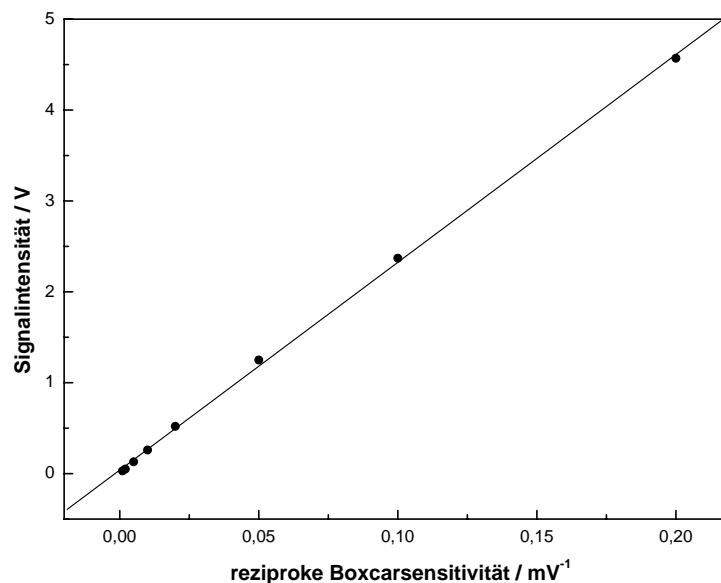


Abb. 4-23: Die Signalintensität abhängig von der Boxcarsensitivität.

4.1.5.5 Intra- und extraexperimentelle Reproduzierbarkeit

Um die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse zu überprüfen, wurde eine Kalibrier Mischung mehrmals täglich an verschiedenen Tagen vermessen. Dabei wurden möglichst alle Parameter konstant gehalten. Die erhaltenen Daten sind in Abbildung 4-24 dargestellt. Die einzelnen Messungen haben eine durchschnittliche Abweichung von 8,6 %, was angesichts der Ungenauigkeit des Laserpulses nicht verwundert. Die Schwankung der Ergebnisse eines Messtages liegen zwischen 1,1 % und 37,1 % mit einem Durchschnitt bei 11,4 %. Neben der nachlassenden Laserintensität liegt diese Schwankung, die sich in Form eines Signalabfalls äußert, an der Eigenschaft der Photomultiplier, dass sie, wenn sie intensivem Licht ausgesetzt werden, eine Regenerationsphase benötigen, die mehrere Stunden dauert. Da hier bewusst auf Pausen verzichtet wurde, kann der Photomultiplier das Signal in manchen Fällen nicht so verstärken wie am Beginn des Versuchstages, eine Abnahme der messbaren Signalintensität ist die Folge. Die Analyse aller Messdaten ergibt eine Abweichung von 48,5 %. Diese große Schwankung hängt mit der Laserintensität, dem Strahlenprofil und dem Strahlengang zusammen. Es ist praktisch nicht möglich, diese Parameter an verschiedenen Versuchstagen konstant zu halten. Insofern stellen die gemessenen Daten keine Überraschung dar, es konnte gezeigt werden, dass die Signalintensität einer Messung als konstant betrachtet werden kann, während die Messungen eines Versuchstages gut vergleichbar bleiben. Messungen, die an verschiedenen Tagen aufgenommen werden müssen an einem geeigneten Standard kalibriert werden, damit sie absolut aussagekräftig sind.

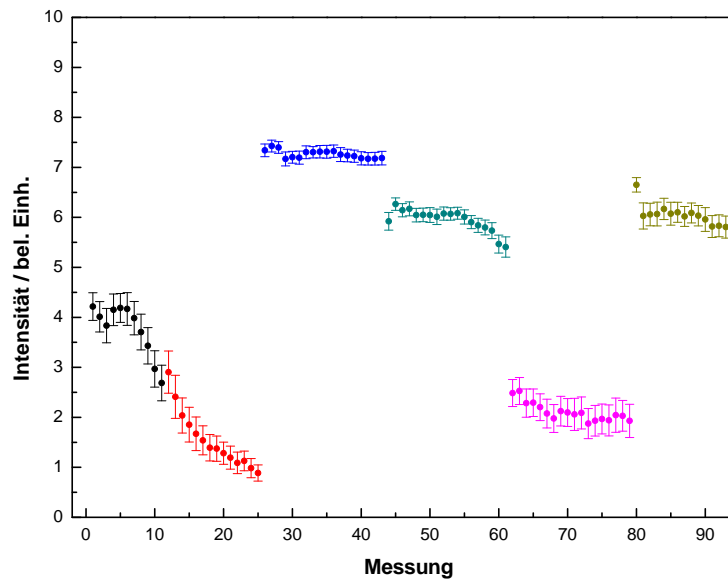


Abb. 4-24: Die Signalintensität einer Gasmischung bei möglichst gleichen Verhältnissen. Die Farben kennzeichnen die verschiedenen Versuchstage.

4.1.6 Verhältnis der Isotopomere

Um die Genauigkeit der Apparatur bei verschiedenen Messbedingungen zu überprüfen, wurde das Verhältnis der Isotopomere experimentell bestimmt. Nach den in Abschnitt 2.1.1 gezeigten natürlichen Isotopenverhältnissen sollte zwischen der Signalintensität eines ^{14}NO -Spektrums und der Signalintensität eines ^{15}NO -Spektrums ein Faktor von 270 liegen. Zur Überprüfung wurden Atemluftproben eines Probanden in PVF-Beuteln zuerst auf ihren ^{14}NO -Gehalt und dann auf ihren ^{15}NO -Gehalt hin untersucht. Die Kalibrierung erfolgte mit Hilfe des Standardadditionsverfahrens (siehe Abschnitt 3.6 und 4.2.2), um die unterschiedliche Photomultiplierspannung auszugleichen. Die durchschnittliche ^{14}NO -Konzentration der Atemluft betrug $14 \pm 2 \text{ ppb}$, während die durchschnittliche ^{15}NO -Konzentration zu $47 \pm 5 \text{ ppt}$ ermittelt werden konnte. Damit ergibt sich ein Faktor von 298 ± 53 zwischen den Signalen. Angesichts der natürlichen Schwankung des NO-Gehalts in der Atemluft konnte das Isotopomerverhältnis hinreichend genau bestimmt werden.

4.2 Kalibrierung des Systems

Da die Methode der laserinduzierten Fluoreszenz keine absolute Methode darstellt, muss die Apparatur anhand von bekannten Proben kalibriert werden. Wie in Abschnitt 3.6 schon diskutiert wurde, kann die notwendige Kalibrierung auf verschiedene Weisen erfolgen. Das eleganteste Verfahren ist der Abgleich der Messzelle mit der Referenzzelle. Durch das Verme-

sen von unterschiedlichen Gasproben wurde untersucht, ob bei sonst gleichen Bedingungen (Photomultiplierspannung, Boxcarsensitivity) die Signalantworten der Signal- und Referenzzelle proportional zueinander sind. Es konnte kein eindeutiger linearer Zusammenhang zwischen den Signalantworten der beiden Zellen gefunden werden, deswegen muss das System täglich kalibriert werden. Der Grund für die Schwankungen der Signale liegt zum Einen an der Ungenauigkeit des Photomultipliers und zum Anderen am nicht exakt reproduzierbaren Strahlengang, der hier einen entscheidenden Einfluss hat. Die Referenzzelle ist trotzdem nützlich, um Schwankungen des Anregungslasers oder ungewollte Wellenlängenveränderungen zu erkennen und darauf reagieren zu können.

4.2.1 Kalibriergeraden

Für die Kalibrierung des Systems werden unter anderem Kalibriergeraden verwendet. Dazu wurde die Signalintensität der Messzelle in Abhängigkeit von der NO-Konzentration vermessen. Dieses Experiment wurde jeweils einmal für eine ^{14}NO -Verdünnungsreihe und eine ^{15}NO -Verdünnungsreihe durchgeführt. Die Ergebnisse der Messungen sind in den Abbildungen 4-25 und 4-26 dargestellt. Bei der Kalibriergerade für das ^{14}NO -Signal ist auffällig, dass die Signalintensität bei höheren Konzentrationen von der Linearität abweicht und sich langsam einem Grenzwert anzunähern scheint. Dies liegt am Sättigungseffekt des Photomultipliers, der einerseits bei hohen Lichtintensitäten das Signal nicht mehr proportional verstärken kann und andererseits mit zunehmender Messdauer an Sensitivität verliert, wenn keine Regenerationspausen eingehalten werden. Aus diesem Grund wird die lineare Regression nur für die ersten Punkte durchgeführt. Die Ergebnisse der angepassten Geraden sind in Tabelle 4-8 zusammengefasst. Bei beiden Kalibriergeraden sind die eingesetzten Konzentrationen mit starken Fehlern behaftet, die sich direkt aus den Abweichungen der Gasmischung und den Ungenauigkeiten der Massenflussregler ergeben. Bei den Messungen wurde nun die Konzentration in der Weise verändert, dass die höheren NO-Konzentrationen bei gleichem Massenfluss der Prüfgasmischung und höherem Massenfluss von Stickstoff hergestellt wurde. Dies bedingt einen durch Fehlerfortpflanzung der Einzelfehler ansteigenden Fehler für höhere Konzentrationen. Die Tatsache, dass sehr kleine Konzentrationen prinzipiell ungenauer herzustellen sind kann numerisch nicht berücksichtigt werden, aus diesem Grunde wurde auf eine Wichtung der Fehler in x-Richtung verzichtet, während die Fehler in y-Richtung bei der linearen Regression berücksichtigt wurden.

Mit Hilfe dieser Geraden kann das System mit einer bekannten NO-Konzentration pro Versuchstag kalibriert werden. Um Sättigungseffekte und Ermüdungserscheinungen des Photomultipliers zu verhindern, sollte die bekannte Konzentration möglichst nahe an der erwarteten Konzentration der zu vermessenden Probe liegen. Je mehr bekannte Konzentrationen ver-

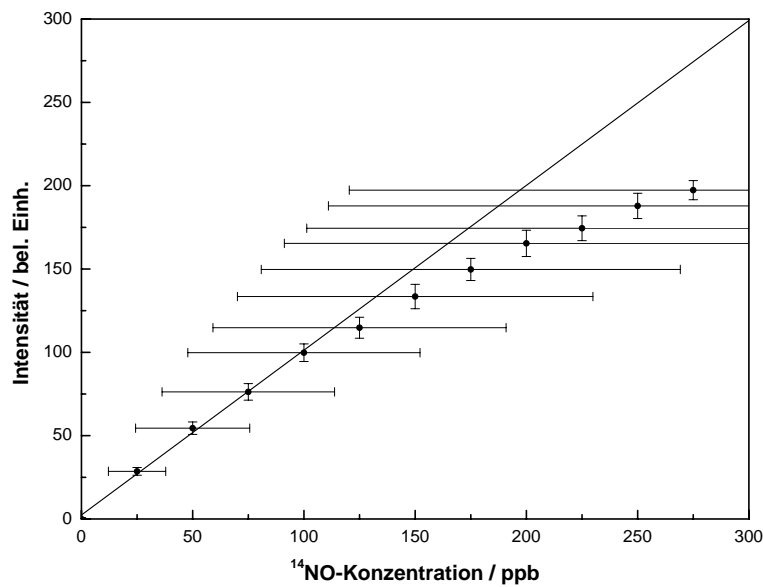


Abb. 4-25: Kalibriergerade für die Detektion von ^{14}NO .

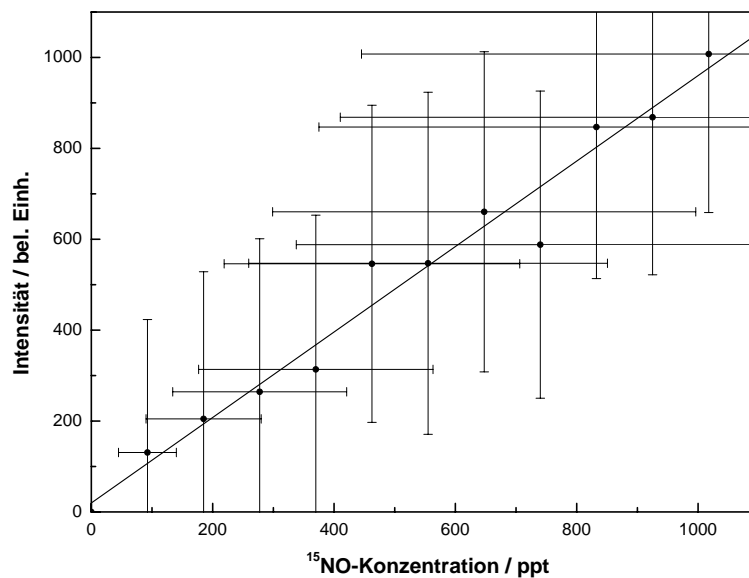


Abb. 4-26: Kalibriergerade für die Detektion von ^{15}NO .

Tab. 4-8: Die aus der Anpassung an die in den Abbildungen 4-25 und 4-26 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter.

Parameter	^{14}NO	^{15}NO
m	$0,989 \pm 0,030$	$0,940 \pm 0,052$
b	$2,372 \pm 1,859$	$19,747 \pm 31,326$
R^2	0,999	0,985

messen werden, desto genauer wird die Kalibrierung. Dazu kommt die in Abschnitt 4.1.5.5 festgestellte Eigenart der Apparatur, im Laufe eines Versuchstages wesentlich höhere Abweichungen zu erhalten als während einer Messung. Aus diesem Grunde wurde jede Messung, die anhand von Kalibriergeraden quantifiziert werden sollte, mit mehreren (4-5) bekannten Konzentrationen verglichen. Diese Praxis erlaubte ein präzises und genaues Messen.

4.2.2 Standardadditionsmethode

Das Standardadditionsverfahren kann immer dann zur Kalibrierung verwendet werden, wenn eine zeitlich konstante Probe quantifiziert werden soll. Das Verfahren dauert mindestens 20 Minuten, prinzipiell könnte diese Zeit bei hohen Wiederholfrequenzen des Anregungslasers und hohen Massenflüssen verkürzt werden, jedoch wird bei hohen Wiederholraten des Excimer-Lasers die Laserintensität instabil und bei sehr hohen Massenflüssen kann die zugeführte Menge an NO nicht mehr optimal gewählt werden. Alle Signale, die über diese Zeit als konstant betrachtet werden konnten, wurden mit der Standardadditionsmethode ausgewertet. Abbildung 4-27 zeigt die ^{15}NO Messung und Auswertung einer Atemluftprobe. Durch die lineare Regression ergibt sich ein ^{15}NO -Gehalt von $55,7 \pm 7,3 \text{ ppt}$.

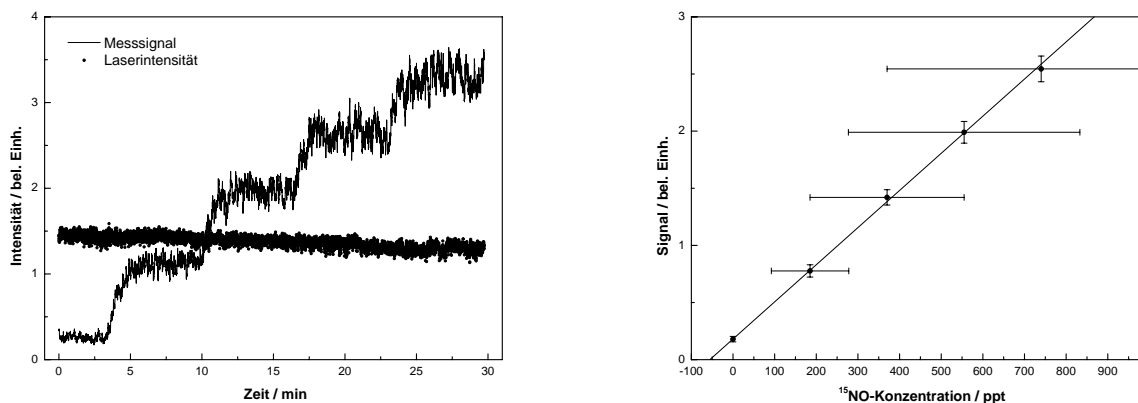


Abb. 4-27: Die gemessenen Rohdaten und die Auswertung mit Hilfe des Standardadditionsverfahrens. Die Signalintensität wurde mit der Laserintensität gewichtet.

4.3 Untersuchung von Atemgas

4.3.1 Einfluss der Probennahme auf die Signalstärke

Das Atmen ist ein biologisch physikalischer Prozess, der entweder als Bauchatmung (Abdominalatmung) oder als Brustatmung durchgeführt werden kann. Bei der Bauchatmung wird

beim Einatmen die Zwerchfellmuskulatur angespannt, was zu einem Unterdruck in der Lunge und damit zu einem Volumenstrom führt. Die Entspannung der Muskulatur kehrt diesen Effekt um und drückt die Luft aus der Lunge. Die Bauchatmung erfolgt zumeist unbewusst mit einem geringen Energiebedarf. Die Brustatmung hingegen beruht auf der Kontraktion und Relaxation der äußeren Zwischenrippenmuskulatur. Diese Art der Atmung ist intensiver und wird meistens bei großer Anstrengung sowie bei bewusst tiefer Atmung angewendet. Beim Atmen selbst wird nicht das ganze Volumen der Lunge ausgetauscht. Während das Volumen der Lunge bei Erwachsenen etwa 5 bis 6 Liter beträgt, wird bei einem Atemzug ungefähr 10 ml pro kg Körpergewicht ein- bzw. ausgeatmet. Neben dem Volumen, das in der Lunge verbleibt, ist das sogenannte Totraumvolumen von Bedeutung, was das Volumen darstellt, das zwar eingeatmet wird, am Gasaustausch an den Lungenbläschen aber nicht teilnimmt. Dieses Totraumvolumen ist der Raum zwischen dem Mund bzw. der Nase und den Lungenbläschen und beträgt etwa 2 ml pro kg Körpergewicht.

Für den in der Atemluft messbaren NO-Gehalt ist die Art der Atmung und die physiologischen Umstände von großer Bedeutung. Sowohl die Tiefe der Atemzüge, die Dauer der Atemzüge als auch die Dauer der Atemzugspausen kann den NO-Gehalt beeinflussen. Dazu kommen äußere Umstände wie der allgemeine Gesundheitszustand, Nahrungsaufnahme, der NO-Gehalt in der Umgebungsluft und vieles mehr. Um nun absolut vergleichbare Messungen zu erhalten, müssen die Art der Atmung und die äußeren Umstände so gut wie möglich konstant gehalten werden. Einige Vorschläge dazu sind in der Fachliteratur zu finden.[107, 108] Für diese Arbeit wurden zwei verschiedene Arten der Probennahme verwendet, einerseits die schon erwähnte Atemluftprobe in einem Beutel, andererseits die echtzeitaufgelöste Online-Messung. Bei allen Probennahmen waren die Probanden angehalten, regelmäßig, langsam, tief und bewusst zu atmen. Es kann von Brustatmung ausgegangen werden. Alle Probennahmen wurden nüchtern durchgeführt, auch Kaffee oder Teegenuss wurde vermieden. Die Probenbeutel aus PVF wurden so mit einem tiefen Atemzug gefüllt. Bei niedrigen Massenflüssen reicht dieses Volumen aus, um die Probe mit Hilfe des Standardadditionsverfahrens zu untersuchen.

Trotz standardisierter Probennahme ist die Schwankungsbreite innerhalb einzelner Messungen recht hoch. Es kann davon ausgegangen werden, dass der NO-Gehalt auch bei konzentriertem, gleichmäßigem Atmen teilweise bis zu 20 % variiert. Besonders deutlich sichtbar ist diese Tatsache bei Online-Messungen.

4.3.2 Tracer-Experimente

Da NO im menschlichen Organismus fast ausschließlich über die NO-Synthase-Reaktion gebildet wird, bietet sich ein Tracer-Experiment mit ^{15}N -dotiertem L-Arginin an. Solch ein Experiment wurde mit drei Probanden durchgeführt. Dabei wurden 7,5 mg L-Guanidino- $^{15}\text{N}_2$ -Argininmonohydrochlorid³ in lauwarmen Wasser aufgelöst und beim Zeitpunkt $t=0$ dem Probanden oral verabreicht. Dann wurden in regelmäßigen Abständen Probenbeutel mit der Atemluft befüllt. Diese Proben wurden mit der Apparatur auf ihren ^{15}NO -Gehalt hin vermessen. Die erhaltenen Daten sind in Abbildung 4-28 dargestellt.

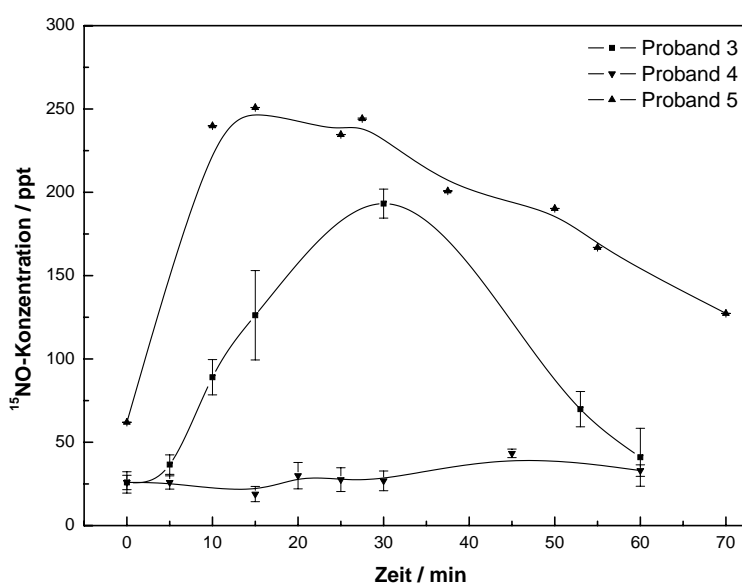


Abb. 4-28: ^{15}NO Gehalt in der Atemluft von Probanden nach Einnahme von ^{15}N -dotiertem L-Arginin. Zur Übersichtlichkeit wurden die Messpunkte mit einem B-Spline verbunden. Die unterschiedlichen Fehlerbalken resultieren aus den unterschiedlichen Messmethoden.

Während die Atemluft der Probanden 3 und 5 einen signifikanten Anstieg der ^{15}NO -Konzentration schon in den ersten 10 Minuten nach der Einnahme zeigen, erlaubt das Signal von Proband 4 keine Aussage zu Veränderungen. Dies kann mit den äußeren Umständen der Probennahme begründet werden (siehe oben). Während die Probanden 3 und 5 vor der Einnahme weder Nahrung noch Kaffee zu sich genommen haben, und zusätzlich während der Probennahme möglichst ohne hektische Bewegungen auf einem Stuhl ausharrten, nahm Proband 4 vor der Arginineinnahme eine Mahlzeit zu sich, trank danach Kaffee und bewegte

³Das verwendete Präparat hat die Summenformel $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2^{15}\text{N}_2\text{O}_2$, die terminalen Stickstoffatome der Guanidin-Gruppe sind zu 98 % durch ^{15}N besetzt. Die Menge des eingenommenen L-Arginins entspricht etwa 20 % der Tagesdosis eines Erwachsenen. Das Hydrochlorid neutralisiert die Ionenladungen im Arginin.

sich über den gesamten Zeitraum. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass diese Faktoren die Probe so beeinflussten, dass keine Schlussfolgerungen gemacht werden können. Im Folgenden werden also nur die Proben der Probanden 3 und 5 diskutiert.

Beim Vergleich der Messdaten von Proband 3 und 5 fällt auf, dass die Abweichungen der Messpunkte bei Proband 5 wesentlich geringer sind als bei Proband 3. Dies liegt an der unterschiedlichen Messtechnik, während die Atemluftproben von Proband 3 mit mehreren Spektren und einer Kalibriermessung ausgewertet wurden, konnten die Proben von Proband 5 mit der Standardadditionsmethode ausgewertet werden.

Der schnelle Anstieg der ^{15}NO -Konzentration kann auf verschiedene Weisen gedeutet werden. Einerseits ist die Aufnahme von Arginin über die Magenschleimhaut denkbar. Durch den Überschuss an Arginin setzt dann vermehrt die NO-Synthase ein, was zu einer Überproduktion an NO führt. Dieses überschüssige NO wird dann über die Blutbahn an die Lungen transportiert und dort über die Atemluft ausgeschieden. Der absolute Anteil an ^{15}N , der so abgebaut wird, ist im Vergleich zur Anzahl der eingenommenen ^{15}N -Argininmoleküle verschwindend gering. Es handelt sich wahrscheinlich nicht um ein Mechanismus des Körpers, um zuviel vorhandenes Arginin abzubauen, wie dies zum Beispiel bei Vitaminen der Fall ist, denn dafür erscheint die ausgeschiedene Menge zu gering bzw. der ^{15}NO -Ausstoß nähert sich zu schnell den normalen Konzentrationen an. Eine zweite Möglichkeit ist die Aufnahme und der Abbau von Arginin über den Darm. Hierfür spricht die Tatsache, dass das Präparat nur mit einer Flüssigkeit eingenommen wurde und deswegen nur äußerst kurz im Magen verweilt. Insofern erlaubt der Zeitpunkt des Anstiegs keine konkrete Aussage hinsichtlich des Abbaumechanismus. Dass ein voller Magen die Aufnahme von Arginin über die Magenschleimhaut genauso verzögert wie die Überführung in den Darmtrakt, ist sehr wahrscheinlich, die Schwankung der ^{15}NO -Konzentration von Proband 4 ist also auf die normale Schwankungsbreite der Messwerte bzw. Probennahme zurückzuführen. Sowohl die Aufnahme des Arginins über die Magenschleimhaut als auch die Argininaufnahme über den Darmtrakt bedeutet, dass der ^{15}NO -Anteil, der für den Anstieg des Signals verantwortlich ist, direkt aus dem vorher eingenommenen L-Arginin synthetisiert wurde. Eine weitere Möglichkeit der Interpretation ist ein genereller Anstieg des NO-Austrags. In diesem Fall würden sich die Signale beider Isotopomere gleichermaßen verstärken, was mit einer Beobachtung der ^{14}NO -Konzentration untersucht werden kann. Dies wiederum würde bedeuten, dass das der ^{15}NO -Anteil, der für den Anstieg des Signals verantwortlich ist, schon vor der Einnahme des Tracers im Körper vorhanden war. In diesem Fall hätte das Tracer-Experiment kein aussagekräftiges Ergebnis.

Um diese Tatsache zu überprüfen wurde das Tracer-Experiment mit undotiertem L-Arginin durchgeführt. Die im vorigen Tracer-Experiment ausgestoßene Menge an ^{15}NO ist so gering,

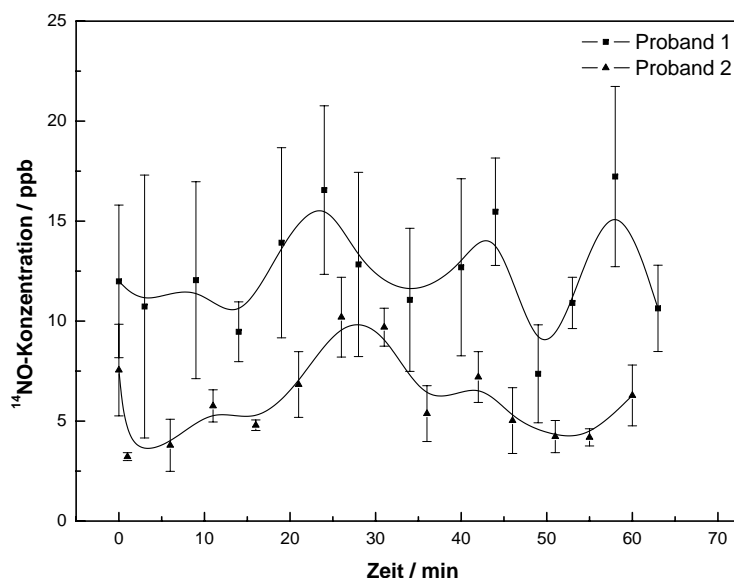


Abb. 4-29: ^{14}NO -Gehalt in der Atemluft von Probanden nach Einnahme von undotiertem L-Arginin. Zur Übersichtlichkeit wurden die Messpunkte mit einem B-Spline verbunden. Die Messpunkte wurden im Online-Verfahren aufgenommen. Die Fehlerbalken repräsentieren die Abweichungen der einzelnen Atemzüge (siehe Abschnitt 4.3.1).

dass ein äquivalenter Anteil an ^{14}NO keinen messbaren Anstieg der ^{14}NO -Konzentration nach sich zieht. Tritt doch eine Anreicherung auf, so ist diese zwar eine Reaktion des Körpers auf die Einnahme, aber das ausgestoßene NO wurde nicht direkt aus dem eingenommenen L-Arginin gebildet. Zwei Probanden wurde 1 mg pro kg Körpergewicht zugeführt, danach wurde ca. 1 Stunde lang der NO-Ausstoß im Online-Verfahren gemessen. Beide Probanden waren nüchtern und haben während der Messung gegessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4-29 dargestellt.

Anhand der gemessenen Daten kann geschlussfolgert werden, dass es nach Einnahme von Arginin zu keiner generellen Erhöhung der NO-Konzentration kommt. Die beobachteten Schwankungen liegen innerhalb der normalen Werte bei Online-Messungen. Der Anstieg der ^{15}NO -Konzentration der in Abbildung 4-28 dargestellten Ergebnisse beruht also tatsächlich auf der Umsetzung des eingenommenen isotopenmarkierten L-Arginin. Die oben erwähnten Schlussfolgerungen sind also zutreffend.

4.3.3 Online-Messungen

Ein Ziel dieser Arbeit war, NO in der Atemluft echtzeitaufgelöst nachzuweisen. Zu diesem Zweck wurde eine handelsübliche Atemmaske so modifiziert, dass sie in die Apparatur integriert werden kann. Für die Online-Messung ist es wichtig, dass die einzelnen Atemzüge

aufgelöst werden, aus diesem Grund kann kein Reservoir benutzt werden, wie es in der Literatur häufig zu finden ist.[10] Stattdessen soll die Funktionsweise der Massenflussregler ausgenutzt werden. Das Prinzip ist, dem Massenflussregler nur solange Atemluft zur Verfügung zu stellen, wie ausgeatmet wird. Beim Einatmen soll der Massenflussregler dann nur Stickstoff in die Zelle transportieren. Gelöst wurde diese Aufgabe mit einer Atemmaske und Rückschlagventilen. Da der Überdruck beim Ausatmen nur ca. 50 mbar beträgt, wurden Gummimembrane als Rückschlagventile verwendet, damit die Anstrengung beim Atmen mit der Maske gering gehalten wird. Fotos der Atemmaske sind in Abbildung 4-30 dargestellt, der schematische Aufbau ist in Abbildung 4-31 zu sehen.

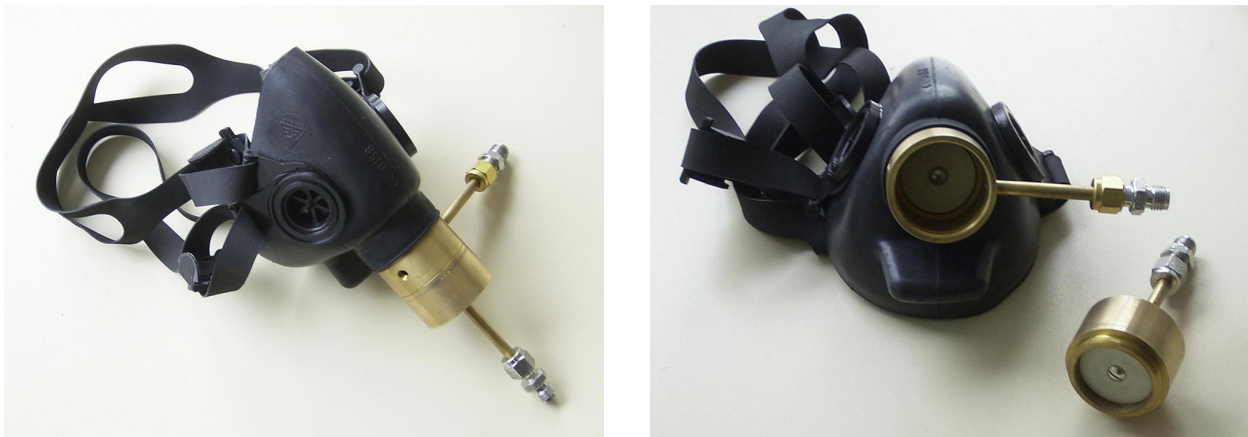


Abb. 4-30: Die für die Online-Messungen angefertigte Atemmaske.

Der von außen anliegende Stickstoffdruck sollte knapp über dem Umgebungsdruck liegen, aber unterhalb des Drucks beim Ausatmen. Die Maske arbeitet wie folgt: Beim Ausatmen schließt sich Ventil A und die Atemluft gelangt durch Ventil B in den Vorratsraum, der sehr klein gewählt ist (36 cm^3). Aus diesem Vorratsraum gelangt soviel Gas in die Zelle, wie der Massenflussregler durchlässt. Das überschüssige Atemgas entweicht durch die Öffnung D. Damit wird sichergestellt, dass sich beim Atmen der Gegendruck nicht erhöht. Sobald eingeatmet wird, öffnet sich Ventil A und Ventil B wird geschlossen. Durch den mit leichtem Überdruck anliegenden Stickstoff öffnet sich Ventil C und der Vorratsraum wird gefüllt. Das kleine Volumen des Vorratsraums gewährleistet den schnellen Austausch von Atemgas und Stickstoff. Um in der Messzelle einen schnellen Gasaustausch zu erzwingen, der wichtig ist, damit das Signal zwischen den Atemzügen schnell gegen Null geht, muss bei hohen Massenflüssen gearbeitet werden ($>1000 \text{ sccm}$). Mit der Maske kann sowohl die Mundatmung, als auch die Nasenatmung untersucht werden. Aufgrund einer in der Nase erhöhten Präsenz von Makrophagen ist der NO-Ausstoß bei der Nasenatmung höher.[108–110] Abbildung 4-32 zeigt die Mund- und Nasenatmung eines Probanden in Echtzeit.

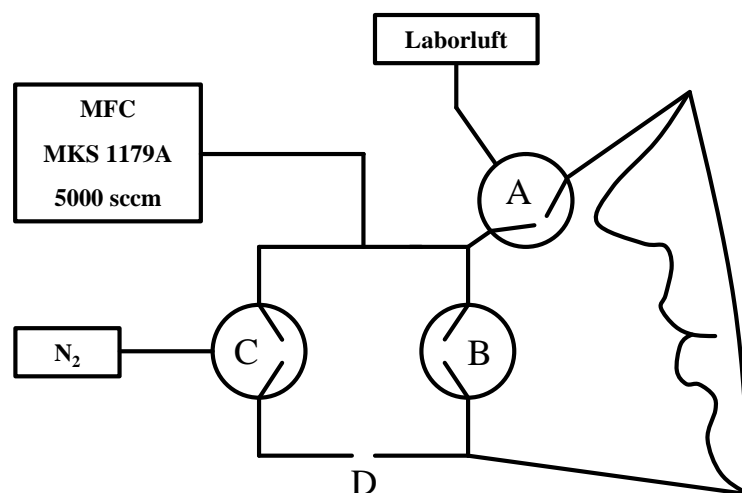


Abb. 4-31: Schematischer Aufbau der Atemmaske.

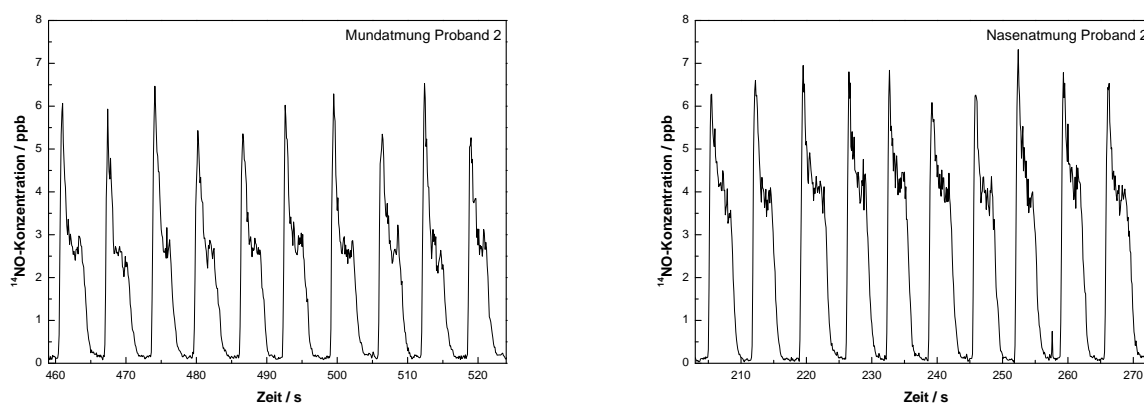


Abb. 4-32: Vergleich vom NO-Gehalt bei Mund- und Nasenatmung.

Diese Messung wurde mit einer Laser-Wiederholrate von 10 Hz durchgeführt. Die einzelnen Atemzüge sind gut aufgelöst, die Varianzen durch verschiedenes Atmen stellen eine wesentlich größere Fehlerquelle dar als die Schwankungen der Apparatur und das Vermischen der Signale durch Diffusion. Die Nasenatmung enthält durchschnittlich etwa 30 % mehr NO als die Mundatmung. Auffallend ist die Form der einzelnen Atemzüge. Oft erscheint am Anfang des Atemzuges ein Peak, der höher ist als der Rest des Atemzugs. Um die Form der Atemzüge besser beurteilen zu können, wurde eine Online-Messung mit der maximalen Laser-Wiederholrate von 50 Hz durchgeführt. Drei beispielhafte Atemzüge dieser Messreihe sind in Abbildung 4-33 dargestellt.

Der Peak zu Beginn jedes Atemzugs ist deutlich zu sehen und dauert etwa 1 s an, bevor das Signal auf einen relativ konstanten Wert, ähnlich einem Plateau, abfällt. Dieser zeitabhängige Konzentrationsverlauf deckt sich mit den in der Literatur angegebenen und resultiert auf einer erhöhten Konzentration von NO im Totvolumen. [107, 108, 111] Das Plateau kann sowohl

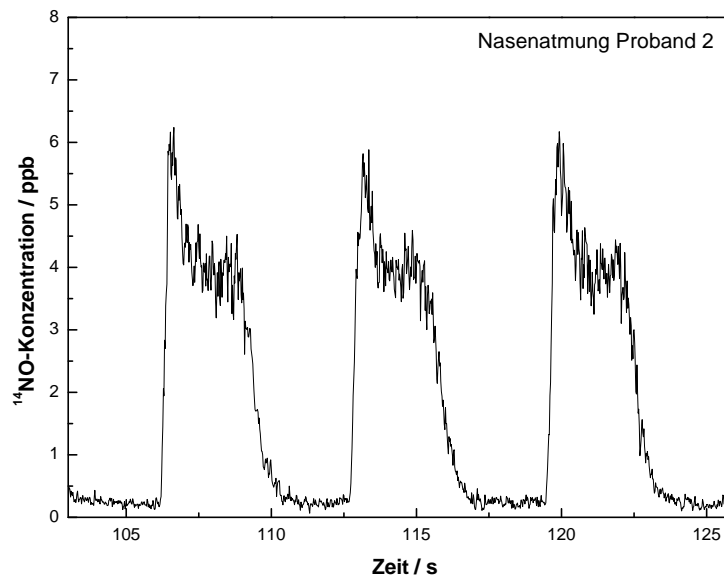


Abb. 4-33: Atemzüge, die mit der maximalen Laser-Wiederholrate von 50 Hz aufgezeichnet wurden

konstant, als auch leicht abschüssig sein. Bei einigen Probanden geht die NO-Konzentration am Ende jedes Atemzugs nach oben. Genaue Klärungen dieses Phänomens bedürfen einer eingehenden Untersuchung, die im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt wurden. Es ist aber offensichtlich, dass die Atemtechnik einen entscheidenden Beitrag auf die Form hat. Um die generelle Verwendbarkeit der Apparatur bei verschiedensten NO-Konzentrationen unter Beweis zu stellen, wurden mehrere Probanden untersucht und der NO-Gehalt anhand von Kalibriermessungen quantifiziert. Eine Auswahl der erhaltenen Signale sind in Abbildung 4-34 dargestellt.

Sowohl die Länge der Atemzüge, als auch der absolute NO-Gehalt ist stark personenabhängig. Besonders auffällig ist Proband 7, der einen sehr unregelmäßigen Verlauf bei sehr hohen NO-Konzentrationen vorweist. Die mangelnde Qualität dieser Messung ist auf das unregelmäßige Atmen des Probanden zurückzuführen. Die Höhe des Signals dagegen ist eine Folge seiner Asthmaerkrankung. Der Mechanismus, der zu einer erhöhten NO-Ausschüttung bei Asthmapatienten führt, ist weitestgehend unbekannt. Es gibt Ansätze, diese Tatsache mit der Anwesenheit von bestimmten Molekülen zu erklären. Neben der Aufklärung dieses krankhaften NO-Anstiegs wird auch die klinische Nutzung dieses Effekts erforscht.[112–114]

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es möglich ist, Online-Messungen in genügender Auflösung ohne Mittelung über einen langen Zeitraum durchzuführen, der Zeitraum wird mehr durch den Probanden begrenzt als durch die Apparatur.

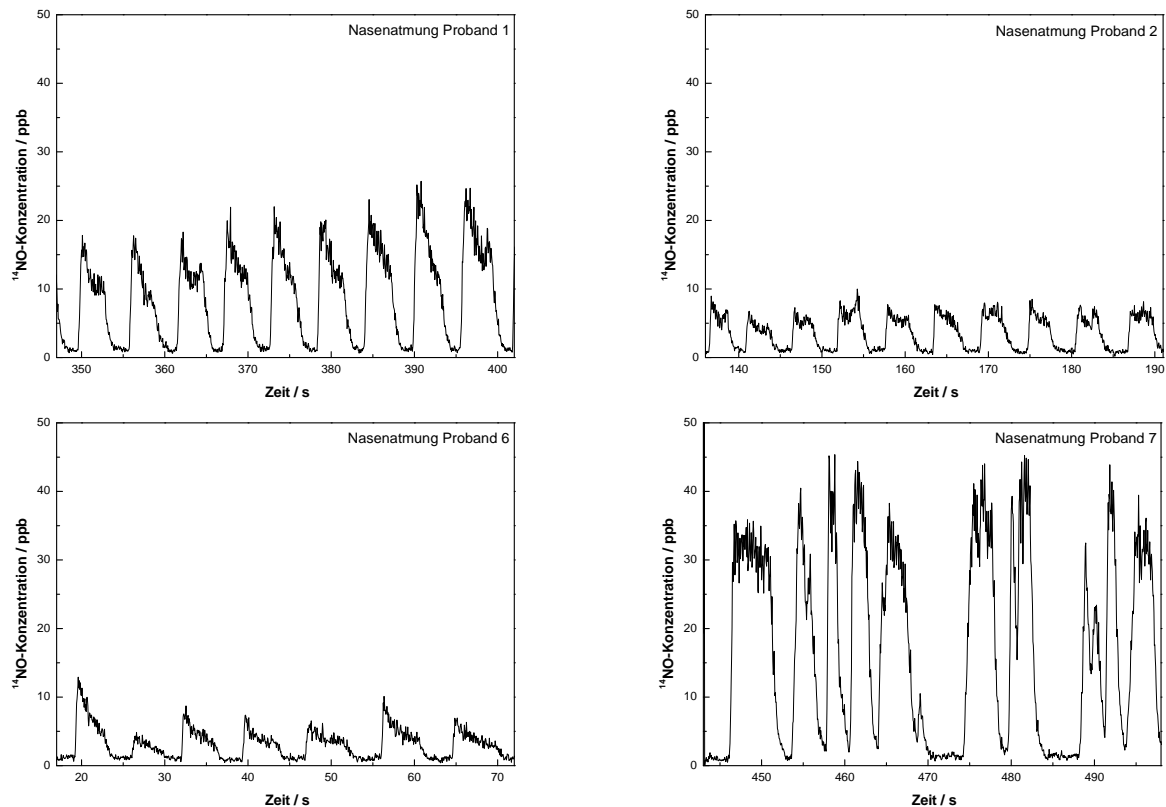


Abb. 4-34: Qualität und Quantität der NO-Konzentration von verschiedenen Probanden.

4.4 NO-Emissionen der menschlichen Haut

Eine andere Methode, den Stickstoff-Kreislauf des menschlichen Organismus nichtinvasiv zu untersuchen, ist die Messung des NO-Austrags der Haut. Die Haut eines erwachsenen Menschen hat im Durchschnitt eine Fläche von ca. 2 m^2 , neben der Abgrenzung des Körpers von der Umwelt und damit zum Schutz erfüllt die Haut vielfältige Funktionen, den Stoffwechsel und der Immunologie betreffend. Die Hautatmung macht beim Menschen etwa 1 % der gesamten Atmung aus. Daneben entsteht NO durch Bakterien, die im Schweiß gelöstes Nitrat reduzieren.[115]

Es soll nun die generelle Verwendbarkeit der Apparatur in Bezug auf die Hautatmung überprüft werden. Dazu wurde ein Plastikbeutel aus PE so präpariert, dass ein Arm luftdicht umschlossen werden kann und zusätzlich zwei Gasanschlüsse vorhanden sind. Diese Gasanschlüsse sind die Ein- und Auslässe für den Stickstoffstrom. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 4-35 dargestellt.

Der Stickstoffstrom wurde manuell mit dem Strom des Massenflussreglers synchronisiert, damit der Plastikbeutel während der Messung immer annähernd das gleiche Volumen beinhal-

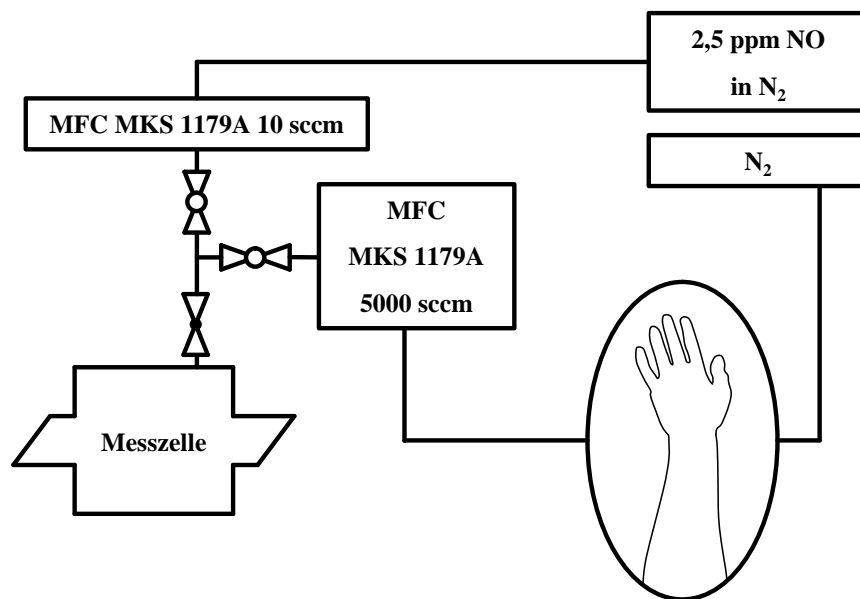


Abb. 4-35: Schematischer Aufbau zur Untersuchung der NO-Emission der Haut.

tet. Als Massenfluss wurde ein Wert von 1000 sccm gewählt. Das Signal wurde bei konstanter Wellenlänge aufgezeichnet. Die Kalibrierung erfolgte mit Hilfe des Standardadditionsverfahrens. Es wurde ein Proband auf seine NO-Emission hin untersucht. Das gemessene Signal entspricht einem NO-Anteil von $1,01 \pm 0,26 \text{ ppb}$. In diesem Fall ist die Angabe der Teilchenverhältnisse nicht zweckmäßig, sinnvoller ist dagegen die absolut pro Zeit und Fläche ausgestoßene Menge an NO. Mit Hilfe der Fläche der vermessenen Haut von ca. 1000 cm^2 ergibt sich so ein NO-Ausstoß von $41 \pm 3 \text{ fmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$. WELLER *et al.* haben bei ihren Studien einen NO-Ausstoß der Hand von $42 - 194 \text{ fmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ und den des Arms von $24 - 55 \text{ fmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ feststellen können.[116] Die hier vorgestellte Messung fügt sich gut in diese Messreihen und untermauert die generelle Verwendbarkeit der Apparatur zum Vermessen vom NO-Ausstoß der Haut. Die am stärksten fehlerbehaftete Größe ist bei diesen Messungen die Fläche der Haut, insbesondere die Handfläche kann nur ungenau abgeschätzt werden.

4.5 NO-Emissionen von Pflanzen

Die Vermessung von pflanzlichen NO-Emissionen stellt prinzipiell ähnliche Anforderungen an die Apparatur wie die Vermessung von Atemluft. Im Umfang dieser Arbeit wurden mehrere Pflanzen auf ihren NO-Ausstoß hin untersucht. Dabei wurden jeweils die Blätter der Pflanzen vermessen. Diese Blätter sind in den Abbildungen 4-36 bis 4-43 zu sehen.



Abb. 4-36: Taubnessel



Abb. 4-37: Christusdorn



Abb. 4-38: Geranie (hängend)



Abb. 4-39: Geranie (stehend)

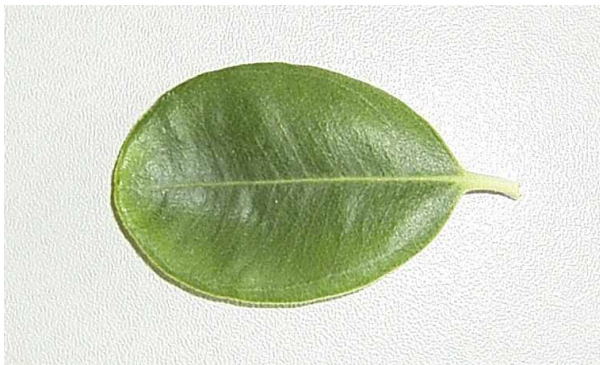


Abb. 4-40: Olivenbaum



Abb. 4-41: Gerbera



Abb. 4-42: Geldbaum

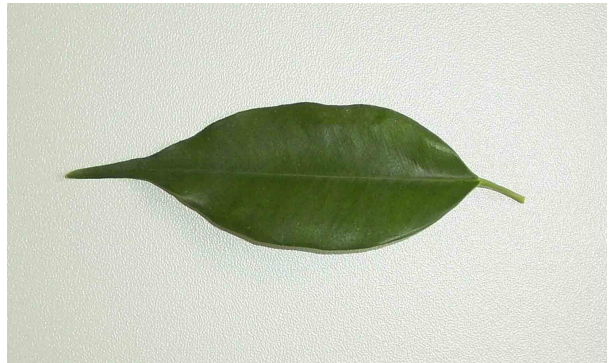


Abb. 4-43: Birkenfeige

Um Pflanzenemissionen zu vermessen, muss der experimentelle Aufbau angepasst werden. Generell wurden die Blätter gesammelt, mit Wasser benetzt und dann mit Hilfe einer Gaswaschflasche in die Apparatur integriert. In der Gaswaschflasche war genau soviel Wasser enthalten, so dass die Stiele der Blätter Kontakt hatten.

Die erste Versuchsreihe wurde im Herbst durchgeführt und bestand aus Blattwerk der Taubnessel (*Lamium*). Der dafür verwendete Aufbau ist in Abbildung 4-44 dargestellt. Da die umgebende Gasart sowie die Lichteinstrahlung einen Effekt auf den NO-Ausstoß haben, wurde der Versuch mit reinem Stickstoff bei Tageslicht, mit reinem Stickstoff bei Dunkelheit, mit Umgebungsluft bei Tageslicht und mit Umgebungsluft bei Dunkelheit durchgeführt. Es wurde jeweils frisches Blattmaterial verwendet. Die Signalintensität wurde gemessen, bis das Signal konstant erschien. Alsdann wurde die Konzentration mit Hilfe des Standardadditionsverfahrens bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4-9 zusammengefasst. Neben der in dieser Arbeit üblichen Konzentrationseinheit ppb ist der in der Literatur häufig angegebene Ausstoß in Teilchenanzahl pro Masse und Zeit angegeben.

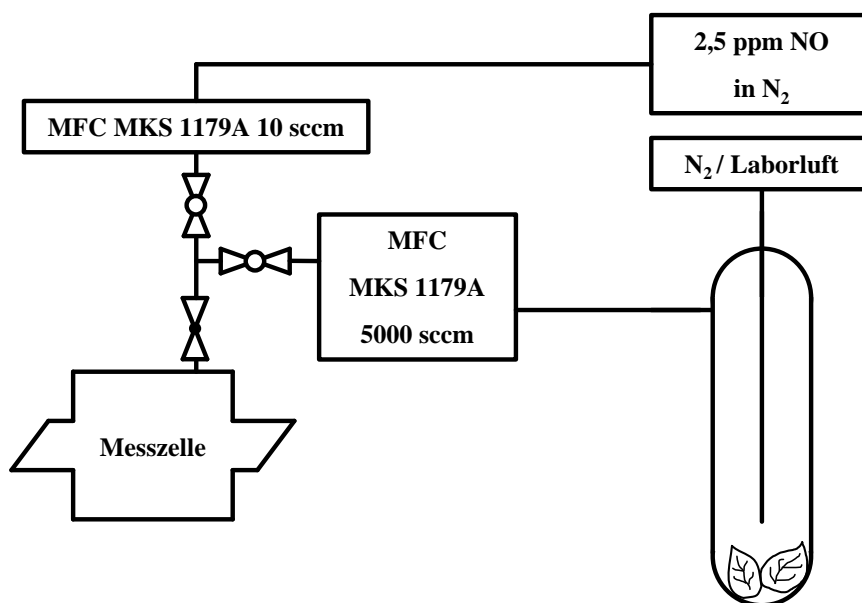


Abb. 4-44: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus zur Vermessung von Blättern.

Tab. 4-9: Die von Blättern einer Taubnessel ausgestoßene Menge an NO.

Messbedingungen	Stickstoffatmosphäre	Laborluft
Tageslicht / ppb	491 ± 43	14 ± 2
unter Lichtausschluss / ppb	303 ± 21	25 ± 3
Tageslicht / $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	236 ± 21	7 ± 1
unter Lichtausschluss / $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	145 ± 10	12 ± 2

Die Begründung der gasartabhängigen NO-Gehalts ist das Verhältnis der NO-Produktion zur konkurrierenden Ammoniak-Synthese. NO kann in Blättern nur über die Nitratreduktase gebildet werden, dabei wird Nitrat und NADH zu Nitrit und NAD umgesetzt. Im Folgenden kann Nitrit entweder zu Ammoniak oder zu NO weiterreagieren, wobei normalerweise die Reaktion zu Ammoniak bevorteilt ist. Unter Sauerstoffmangel setzt jedoch die Zellatmung aus, was zu einer Erniedrigung des pH-Werts führt. Diese Tatsache wiederum verändert die Lage des Gleichgewichts der oben beschriebenen Reaktion, so dass weniger Ammoniak, dafür aber mehr NO produziert wird. Da die Taubnessel ebenso wie die Brennessel die Fähigkeit besitzt, Nitrate zu akkumulieren, ist der sehr hohe Ausstoß an NO nicht verwunderlich.[117, 118] Lichteinstrahlung bewirkt im Normalfall eine Aktivierung der Nitratreduktase und somit einen erhöhten NO-Ausstoß. Warum die Messungen in Luft diesen Trend nicht vorweisen, ist nicht ergründlich. Wahrscheinlich ist, dass die Blätter schon teilweise abgestorben waren und deswegen die ablaufenden Prozesse nur gehemmt stattfanden.

Eine zweite Versuchsreihe wurde im Winter durchgeführt. In diesem Teil wurde die Probenahme auf Zimmerpflanzen beschränkt. Es sollte der Einfluss der Gasart auf die NO-Produktion untersucht werden. Dazu wurde die Apparatur so umgebaut, dass das Verhältnis von Sauerstoff und Stickstoff mit Hilfe der Massenflussregler eingestellt werden konnte. Da nur zwei Massenflussregler angesteuert werden können, steht in diesem Aufbau die Probe unter dem gleichem Druck, der auch in der Messzelle herrscht. Damit das Wasser in der Messzelle nicht zu schnell verdampft, wurde die Gaswaschflasche von außen mit Eis gekühlt. Der experimentelle Aufbau ist schematisch in Abbildung 4-45 dargestellt. Es wurden 6,8 g Blätter des Christusdorns (*Euphorbia milii*) untersucht. Dabei ist ausgehend von reinem Sauerstoff die Stickstoffkonzentration sukzessiv erhöht wurden, bis der Gasfluss aus reinem Stickstoff bestand. Danach wurde die Stickstoff-Konzentration wieder schrittweise auf 0 verdünnt. Während der gesamten Messdauer war die Gaswaschflasche dem Tageslicht ausgesetzt. Die Kalibrierung erfolgte mit Kalibriermessungen. Die gewonnenen Ergebnisse sind in Abbildung 4-46 dargestellt.

Auf den ersten Blick spiegelt das Ergebnis die Erwartungshaltung wider, die Signalintensität steigt mit anwachsendem Stickstoff-Anteil. Die Messpunkte der aufsteigenden bzw. absteigenden Stickstoffkonzentration sind annähernd identisch, deswegen wurden sie im Graphen zusammengefasst. Allerdings stellt diese Methode nur eine relative Vergleichsmöglichkeit dar, es muss also noch die Fluoreszenzlöschung betrachtet werden. Wenn von dem Signal, das bei reinem Stickstoff erhalten wird, ausgegangen wird, dann bewirkt die Fluoreszenzlöschung des beigemischten Sauerstoffs eine Signalschwächung, die der des gemessenen Signals qualitativ ähnlich ist. Der Verlauf der Messpunkte erlaubt also keine generellen Aussagen über den gasartabhängigen NO-Ausstoß. Das kann verschiedene Ursachen haben. Zum Einen handelt

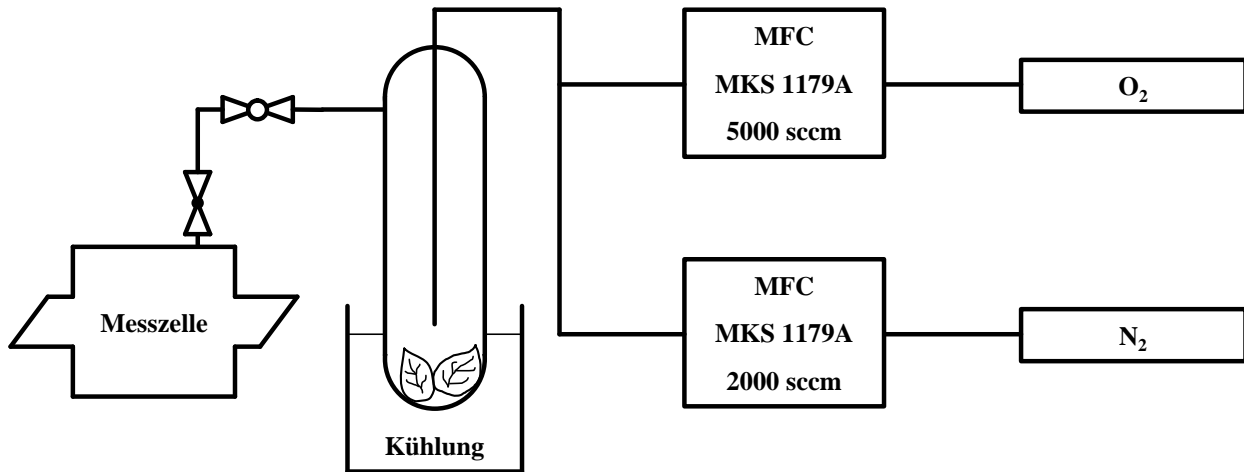


Abb. 4-45: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus zur Vermessung von Blättern.

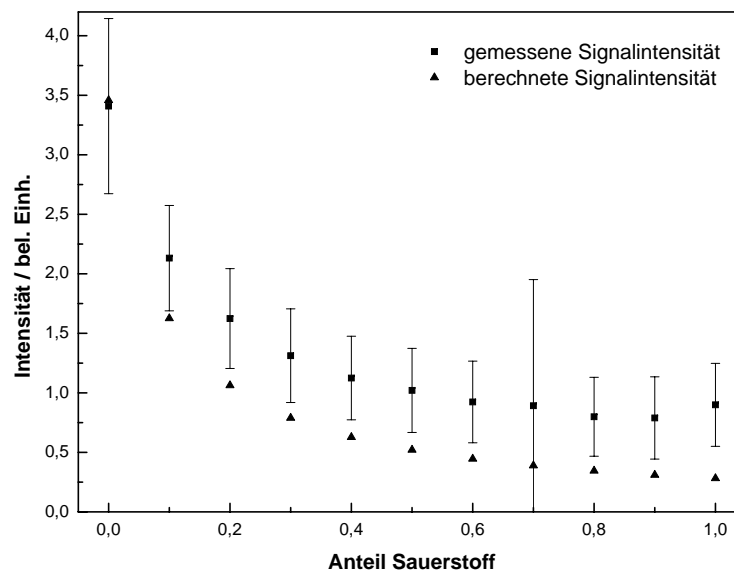


Abb. 4-46: Der Einfluss der Gasmischung auf den NO-Ausstoß von Blättern. Die berechnete Signalintensität bezieht sich auf das Signal bei reinem Stickstoff und trägt der Tatsache Rechnung, dass die Signalintensität nach Beimischung von Sauerstoff durch Fluoreszenzlöschung abnimmt.

es sich beim Christusdorn um eine andere Pflanzengattung als bei der Taubnessel, es kann also durchaus verschiedene biochemische Prozesse geben, dazu kommt die Tatsache, dass der Christusdorn als Zimmerpflanze gehalten wird und im Winter vermessen wurde. Zum Anderen kann der NO-Ausstoß vom Christusdorn so gering sein, dass die Messreihe zu keinem brauchbaren Ergebnis führen kann, da das Schwanken des Signals bedingt durch den Anregungslaser und den Photomultiplier eventuell größer ist als der Anstieg, der durch die verschiedenen Gasmischungen erzeugt wird. Ein weiterer Effekt, der unter Umständen einen Einfluss auf die Messergebnisse haben kann, ist die Tatsache, dass die Blätter unter dem gleichen Bedingungen wie die Messzelle gehalten wurden (12 mbar). Wie sich diese Druckveränderung auf die Pflanzen auswirkt, ist nicht bekannt. Aus diesen Gründen wurde die Apparatur umgebaut, um aus den verfügbaren Zimmerpflanzen eine Spezies auszumachen, deren NO-Emission so stark ist, dass die Messungen sinnvoll ausgewertet werden können. Der veränderte experimentelle Aufbau ist in Abbildung 4-47 dargestellt.

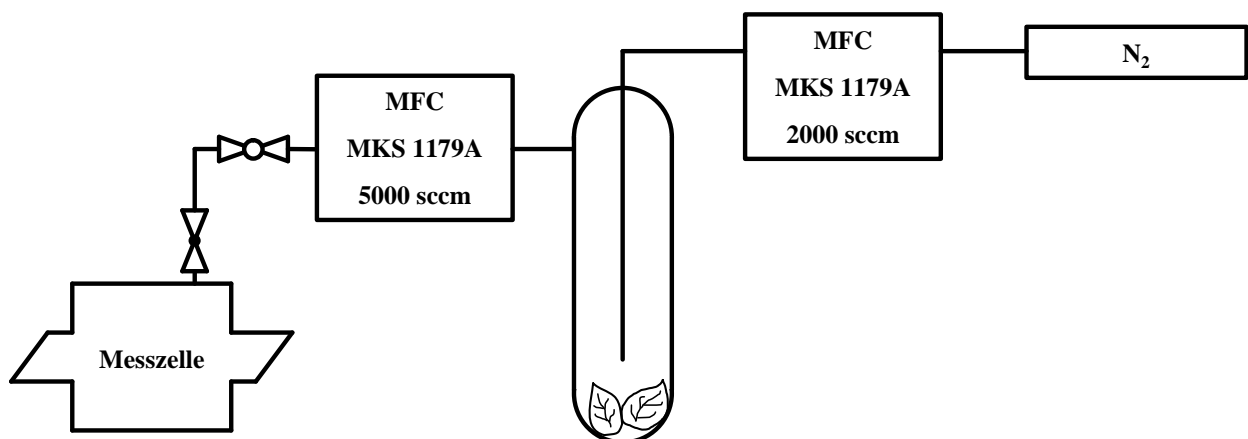


Abb. 4-47: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus zur Vermessung von Blättern.

Bei diesem Aufbau kann die Gasmischung nicht verändert werden. Die Blätter sollten generell auf Ihren maximalen NO-Ausstoß hin untersucht werden, der unter Sauerstoffausschluss und unter Lichtausschluss zu erwarten ist. Es wurde die zeitabhängige Signalintensität detektiert. Diese Versuche wurden mit einzelnen Blättern eines Christusdorns, einer hängenden Geranie (*Pelargonium*), einer stehenden Geranie (*Pelargonium*), eines Olivenbaums (*Olea europaea*), einer Gerbera, eines Geldbaums (*Crassula ovata*) und einer Birkenfeige (*Ficus benjamina*) durchgeführt. Die Ergebnisse sind vergleichbar, ein exemplarischer Signalverlauf ist in Abbildung 4-48 dargestellt.

Die Messung erlaubt einige generelle Aussagen. Entgegen der Voraussage wird die NO-Produktion durch Lichteinwirkung offensichtlich gehemmt. Nach dem Ausschalten des Lichts wird die ursprüngliche Entwicklung fortgeführt. Das Maximum dieser Kurve liegt bei mehreren Stunden, eine konkrete Aussage ist nicht möglich, weil nach einer Messdauer von fünf

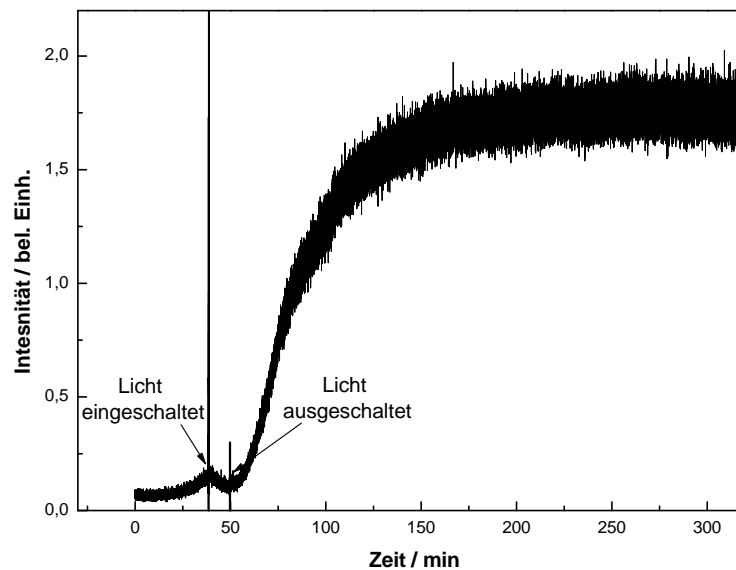


Abb. 4-48: Der NO-Ausstoß eines Blattes vom Christusdorn.

Stunden die Messung wegen abnehmender Laserenergie abgebrochen werden musste. Der Stickstofffluss wurde über Nacht aufrechterhalten und das Blatt am darauffolgendem Tag erneut vermessen. Es konnte festgestellt werden, dass die Signalintensität auf Null abgefallen war. Die Messungen der anderen Pflanzen ergaben ähnliche Kurvenverläufe. Im Vergleich zur Taubnessel ist die emittierte Menge an NO gering und der Anstieg des Signals langsam.

Um höhere Signale zu ermöglichen, wurden nun mehrere Blätter gleichzeitig vermessen. Da der Blattvorrat der Zimmerpflanzen limitiert war, wurden Blätter verschiedener Spezies vermisch. Dies führte zu einer starken Änderung der Signalantwort. Da die Anlage nicht kalibriert wurde und damit die Signalintensität nicht absolut bewertet werden kann, ist es der viel schnellere Anstieg des Signals, der auffällt. Die gemessenen Daten sind in Abbildung 4-49 dargestellt.

Dabei handelt es sich um eine Mischung aus je einem Blatt des Christusdorns, der beiden untersuchten Geranienarten, des Olivenbaums und der Gerbera. Das verschobene Maximum hängt vermutlich mit der Luftfeuchtigkeit zusammen. Ist die Luft trocken, so schließen die Blätter die mikroskopisch kleinen Blattöffnungen, um nicht auszutrocknen. Dadurch verlangsamt sich die gesamte Biochemie, also auch die Nitratreduktase. Dies hat einen geringeren NO-Ausstoß und einen langsameren Absterbemechanismus zur Folge, was sich in der Kurve der einzelnen Blätter widerspiegelt. Wenn nun viele Blätter im Probenraum vorhanden sind (unabhängig der Spezies), dann können sie ihr verdampftes Wasser gegenseitig aufnehmen. Dadurch bleiben die Spaltöffnungen erhalten und alle biochemischen Vorgänge laufen wie gewohnt ab, dies hat eine höhere NO-Produktion zur Folge.[118]

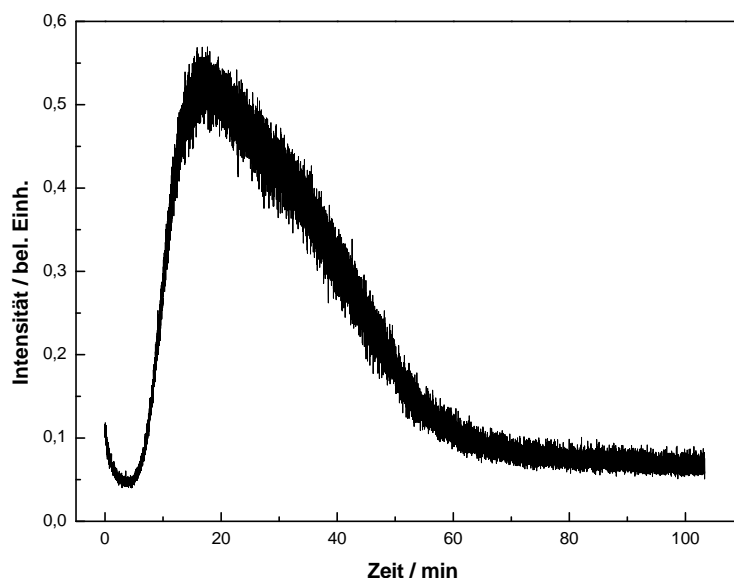


Abb. 4-49: Der NO-Ausstoß von mehreren Blättern verschiedener Pflanzen.

Da die vorhandenen Pflanzen keine guten Versuchsobjekte darstellten und zusätzlich rarer wurden, wurde auf eine weitere, eingehende Untersuchung verzichtet. Es konnte aber gezeigt werden, dass der NO-Ausstoß von Pflanzen mit Hilfe der Apparatur bestimmt werden kann.

4.6 Spektrallampen

Die Spektrallampen wurden im Umfang einer Kooperation in St. Petersburg am Ioffe Institut unter der Leitung von Prof. Dr. O. S. VASYUTINSKII von A. A. VESELOV hergestellt. Der erste Schritt der Herstellung war das Formen der Gläser zu Kugeln mit einem Radius von etwa 2 cm. Dann wurden diese Kugeln mit Kaliumdichromat behandelt, das in konzentrierter Schwefelsäure gelöst war. Danach wurde mehrmals mit destilliertem Wasser und letztlich mit absolutem Ethanol gespült. Nach sorgfältiger Prüfung auf verbleibende Verunreinigungen wurden die Lampen an ein Hochvakuumssystem angeschlossen und unter Erhitzung evakuiert. Schließlich wurden die Lampen mit Luft befüllt und verschlossen. Bei der Befüllung sorgte eine Kühlfalle dafür, dass kein Wasser in die Lampen gelangen konnte. Es wurden 10 Lampen mit den Drücken 2,7 mbar, 4 mbar, 5,3 mbar, 6,7 mbar, 8 mbar, 10,7 mbar, 13,3 mbar, 16,8 mbar, 20 mbar und 26,7 mbar hergestellt (entsprechend 2 torr, 3 torr, 4 torr, 5 torr, 6 torr, 8 torr, 10 torr, 12,6 torr, 15 torr und 20 torr). Die Lampen wurden in Deutschland mit der vorhandenen Apparatur zur Untersuchung nicht-thermischer



Abb. 4-50: *Illuminierte Spektrallampen bei verschiedenen Generatorleistungen.*

Plasmen untersucht. Abbildung 4-50 zeigt Bilder von gezündeten Spektrallampen bei verschiedenen Generatorleistungen.

Es wurden alle zehn Spektrallampen gezündet und die Emissionspektren aufgenommen. Das Zündminimum kann mit Hilfe des Paschen-Gesetzes (Gleichung 2.87) bestimmt werden. Der Elektrodenabstand betrug bei allen Messungen 1,5 cm. Durch Auftragung des Produkts aus Druck und Elektrodenabstand gegen die Zündspannung und Anpassen der Daten an das Paschen-Gesetz werden die stoffspezifischen Konstanten und die Lage des Zündminimums ermittelt. Die graphische Auswertung ist in Abbildung 4-51 dargestellt.

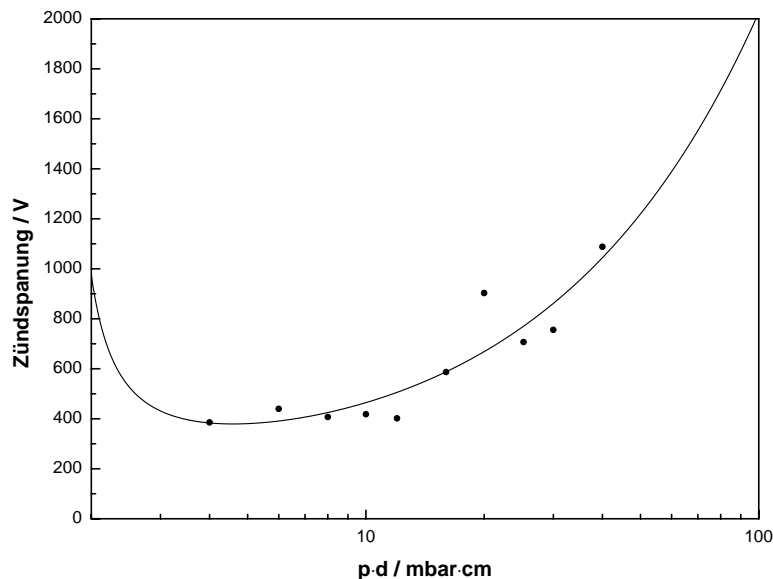


Abb. 4-51: *Gemessene Abhängigkeit der Zündspannung von Druck und Elektrodenabstand.*

Aus der Anpassung ergeben sich die Parameter zu $B = 83 \pm 11$ und $C = -0,5 \pm 0,3$ bei einem Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,839$. Das Zündminimum liegt demnach bei einem Druck von 2,3 mbar und einer Zündspannung von 379 V. In diesem Fall ist die minimale

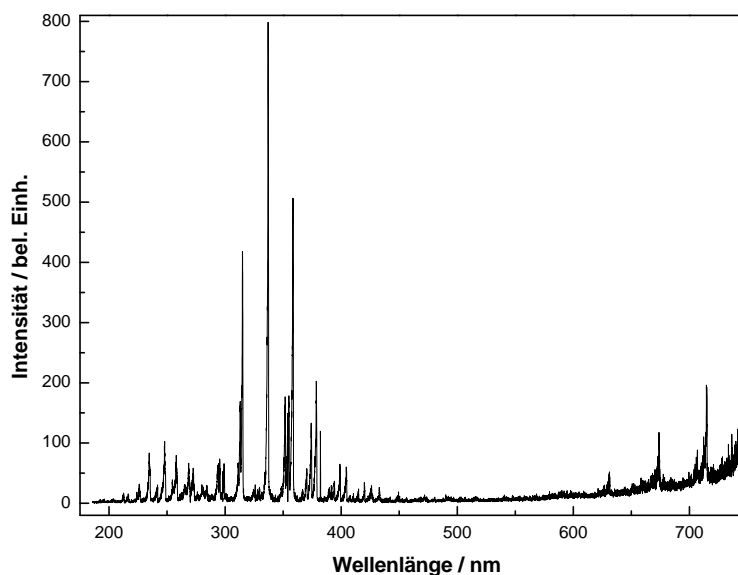


Abb. 4-52: Gemessenes Spektrum einer Spektrallampe.

Zündspannung aber nur zweitrangig, primär geht es um die Qualität und Quantität des emittierten Lichts. Abbildung 4-52 zeigt das gemessene Spektrum der 20 *mbar*-Lampe bei einer Generatorleistung von 120 *W*.

Das gemessene Spektrum umfasst den maximal von der Kamera detektierbaren Bereich von 180 bis 750 *nm*. Die Werte oberhalb von 600 *nm* sind stark fehlerbehaftet, da die Quantenausbeute des Detektors stark nachlässt. Der interessante Bereich ist der unterhalb von 227 *nm*, da NO bei Zimmertemperatur fast nur im vibronischen Grundzustand vorliegt. Der relevante Ausschnitt ist in Abbildung 4-53 zu sehen. Zur besseren Übersicht ist das simulierte Absorptionsspektrum enthalten. Die Spektrallampen beinhalten den $\gamma(0,0)$ -Übergang, wenn auch mit vergleichsweise schwacher Intensität. Zwar sind andere Übergänge vorhanden, die von elektronisch angeregtem NO herrühren, jedoch gibt es unterhalb von 225 *nm* keine Übereinstimmung.

Das wesentliche Kriterium zur Verwendbarkeit der Lampen ist die Intensität. Die Intensität ist vom Druck abhängig, deswegen wurde getestet, welcher Druck die höchste Lichtintensität verspricht. Zu diesem Zweck wurden alle Lampen bei einer Generatorleistung von 100 *W* vermessen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Abbildung 4-54 dargestellt. Dabei ist sowohl die gesamte Lichtintensität erfasst worden, als auch der entscheidende Übergang bei 226 *nm*.

Es zeigt sich ein Trend hin zu höheren Drücken. Diese stellen zwar höhere Anforderungen an die Apparatur, um gezündet zu werden, haben dafür aber bei gleicher Spannung eine höhere Lichtintensität. Da die Lichtintensität auch von der Generatorleistung abhängt, wurde

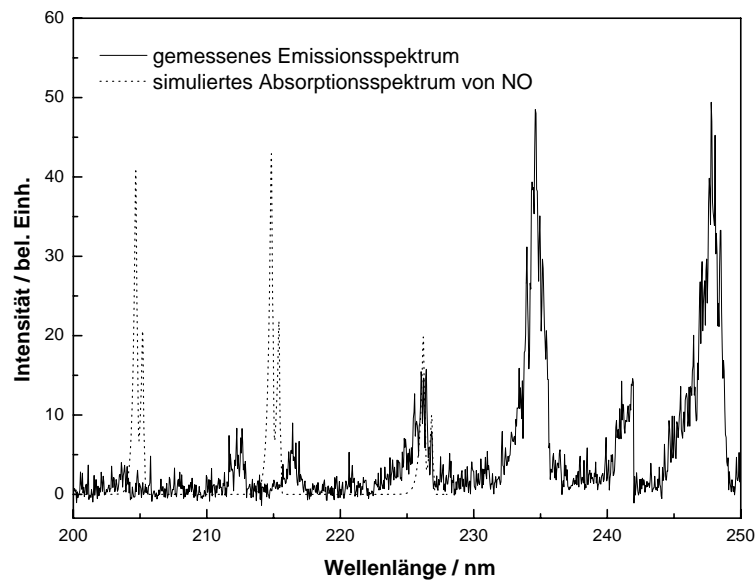


Abb. 4-53: Gemessenes Spektrum einer Spektrallampe im Vergleich zum simulierten Absorptionsspektrum von NO.[62]

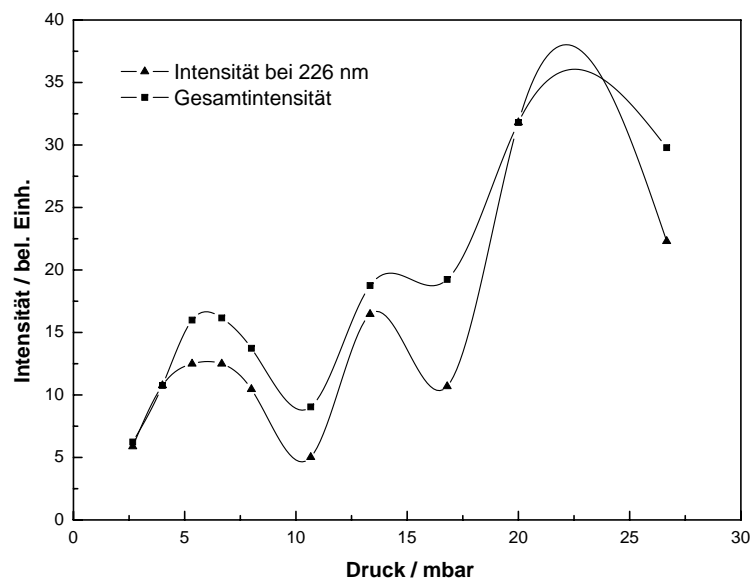


Abb. 4-54: Die druckabhängige Lichtintensität der Spektrallampen. Zur besseren Übersicht wurden die Messpunkte mit einem Spline verbunden.

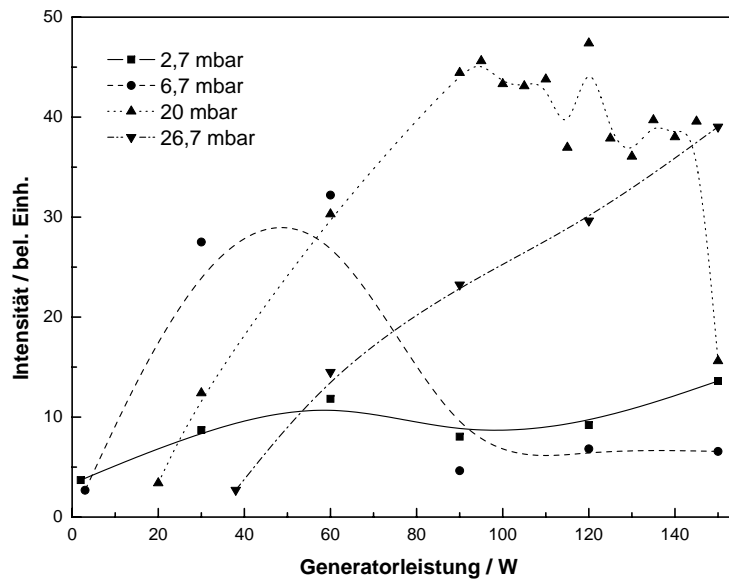


Abb. 4-55: Die leistungsabhängige Lichtintensität bei verschiedenen Drücken. Zur besseren Übersicht wurden die Messpunkte mit einem B-Spline verbunden.

zusätzlich überprüft, wie sich dieser Effekt bei verschiedenen Drücken verhält. Dazu wurden exemplarisch die Lampen mit den Drücken 2,7 mbar, 6,7 mbar, 20 mbar und 26,7 mbar untersucht. Als untere Grenze diente nicht das Zündminimum, sondern die minimale Leistung, die zum Aufrechterhalten der Glimmentladung notwendig ist. Für die Auswertung wurde nur der $\gamma(0,0)$ -Übergang berücksichtigt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4-55 dargestellt.

Es kann geschlussfolgert werden, dass der Druckbereich um 20 mbar das Optimum für die Lichtausbeute darstellt, weil er das beste Verhältnis zwischen Zündspannung und Lichtintensität vorweist. Dennoch ist die observierte Lichtintensität zu gering, um NO in der Atemluft nachzuweisen. Derartige Lampen werden eingesetzt, um NO in Verbrennungsprozessen nachzuweisen. Bei diesen Prozeduren ist die NO-Konzentration wesentlich höher (ppm-Bereich), außerdem ist NO bei den vorliegenden Temperaturen vibronisch angeregt, so dass die im Spektrum vorhandenen $\gamma(0,1)$ - und $\gamma(0,2)$ -Übergänge genutzt werden können.[7] VASYUTINSKII und VESELOV experimentieren mit anderen Formen als der sphärischen. Eine Spektrallampe in Hantelform soll eine höhere Lichtintensität versprechen.[119]

Kapitel 5

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde NO mittels laserinduzierter Fluoreszenzspektroskopie qualitativ und quantitativ nachgewiesen. Diese Methode erlaubt eine sensitive und selektive Bestimmung der NO-Konzentration in Echtzeit, was für die Grundlagenforschung der Medizin, Biologie und Pedologie von Bedeutung ist.

Es wurde eine Apparatur aufgebaut, die in Echtzeit wenige ppt von NO selektiv nachweisen kann. Die Bedeutung der Selektivität offenbart sich besonders in der Möglichkeit, isotopenselektive Messungen durchzuführen, was eine Durchführung von Versuchsreihen mit isotopenmarkierten NO-Vorläufermolekülen ermöglicht.

Es wurden sowohl Versuche mit einem anregenden Photon durchgeführt, als auch eine simultane Anregung mit zwei Photonen. Beide Experimente konnten erfolgreich abgeschlossen werden, wobei die Anregung von NO mit nur einem Photon eine geringere Nachweisgrenze verspricht und deswegen hauptsächlich verwendet wurde.

Über das Signal-zu-Rausch-Verhältnis wurden die apparativen Parameter optimiert. Genau so wurde die Nachweisgrenze experimentell zu $3,7 \pm 0,33 \text{ ppt}$ bestimmt, was mit geeigneten Mittelungsverfahren eine effektive Nachweisgrenze im sub-ppt-Bereich bedeutet. Mit Hilfe der Methode der Paarvarianzen nach Allan wurde der Einfluss der Mittelungszeit auf die Präzision des Signals untersucht. Die optimale Mittelungszeit beträgt demnach 1000 s. Bei konstanten Signalen wurde diese Mittelungszeit eingehalten.

Der Einfluss verschiedener Inhaltsstoffe der Proben auf die Messgenauigkeit bzw. die Signalintensität wurde diskutiert bzw. gemessen. Dazu wurden die Fluoreszenzlöschungskonstanten der wichtigsten Inhaltsstoffe, die Signalabschwächung und die Fluoreszenzlebensdauer bestimmt. Der optimale Druckbereich wurde ermittelt, bei dem die maximal mögliche Signalintensität erreicht wird.

Der Einfluss der in der Apparatur verbauten Teile wurde vermessen und diskutiert. Die Schwankungen des Lasersystems konnten durch die Inbetriebnahme einer Referenzzelle sowohl qualitativ als auch quantitativ erfasst werden. Die anderen untersuchten Bauteile können durch diese Versuchsreihen als hinreichend präzise und genau genug im Rahmen der allgemeinen Messunsicherheit angesehen werden. Durch die Untersuchung der intra- und extraexperimentellen Reproduzierbarkeit konnte dargelegt werden, dass die Apparatur an einem Versuchstag präzise und genau arbeitet, aber jeden Tag kalibriert werden muss.

Diese Kalibrierung kann entweder über aufgenommene Kalibriergeraden erfolgen oder über das Standardadditionsverfahren. Die Methoden zur Kalibrierung wurden diskutiert und das Standardadditionsverfahren als genauer bewertet, weswegen in dieser Arbeit immer das Standardadditionsverfahren zur Kalibrierung verwendet wurde, sobald die Bedingungen zur Nutzung dieser Methode erfüllt waren.

Der Hauptaugenmerk dieser Arbeit lag auf der Untersuchung von Atemluft. Diese wurde auf ihren ^{14}NO -Gehalt und ^{15}NO -Gehalt hin untersucht. Um einzelne Atemzüge auflösen zu können, wurde eine Atemmaske entworfen, wodurch die exhalierte NO-Konzentration in Echtzeit dargestellt werden kann. Die maximal erreichte Auflösung der Atemzüge liegt bei 0,02 s und wird nur durch das verwendete Lasersystem limitiert. Im Allgemeinen liegt die NO-Konzentration der Luft in Mund, Nase und der Luftröhre über der NO-Konzentration der Luft, die in der Lunge ist. Die NO-Konzentration ist insgesamt stark von Umständen der körperlichen Verfassung abhängig. Es wurden Tracer-Experimente mit ^{15}N -markiertem L-Arginin durchgeführt. Nach Einnahme von 7,5 mg Arginin pro kg Körpergewicht erhöhte sich der ^{15}NO -Ausstoß der nüchternen Probanden innerhalb einer Stunde signifikant. Ein Teil des Arginins wurde also sehr schnell umgesetzt, wahrscheinlich hat eine Umsetzung im Darmtrakt stattgefunden. Eine genauere Untersuchung könnte mit einem Tracer-Experiment geschehen, das mit Hilfe der Atemmaske in Echtzeit erfolgen kann.

Um die generelle Verwendbarkeit der Apparatur für andere Anwendungsbereiche zu untersuchen wurde der NO-Ausstoß der menschlichen Haut vermessen. Dabei wurde ein Arm vermessen. Das gemessene Signal entspricht einem NO-Ausstoß von $41 \pm 3 \text{ fmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$. Dieser Wert stimmt gut mit Literaturangaben überein.

Schließlich wurden Versuche mit Pflanzen durchgeführt. Dazu wurden Blätter in verschiedenen Gasströmen untersucht und der NO-Gehalt bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass der NO-Ausstoß von Blättern in Abwesenheit von Sauerstoff ansteigt und dass Licht einen entscheidenden Einfluss auf die Blätter hat.

Im Umfang einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. O. S. VASYUTINSKII aus St. Petersburg, Russland wurden Spektrallampen hergestellt, mit denen NO nachgewiesen werden kann. Die Lampen wurden in Deutschland in Betrieb genommen und das Fluoreszenzlicht vermessen. Die Versuchsreihe kam zu dem Ergebniss, dass die Lampen prinzipiell für den Nachweis von NO verwendet werden können. Ein solcher Nachweis müsste über die Absorptionsmessung geschehen und würde nur bei höheren Konzentrationen bzw. hohen Temperaturen funktionieren. In St. Petersburg wird daran gearbeitet, die Lichtintensität der Lampen zu verstärken.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die entwickelte Apparatur durch die Optimierungs- und Charakterisierungsmaßnahmen sehr gut in der Lage ist, NO aus biologischen Proben zu detektieren und zu quantifizieren. Das Instrumentarium wurde aus diesem Grund zum Patent angemeldet.[120] Die Verwendbarkeit der Apparatur für die Grundlagenforschung konnte demonstriert werden. Sie kann nun genutzt werden, um gezielt Mechanismen im Stickstoffhaushalt von Menschen und Pflanzen detailliert aufzuklären.

Kapitel 6

Literaturverzeichnis

- [1] IGNARRO, L. J. ; BUGA, G. M. ; WOOD, K. S. ; BYRNS, R. E. ; CHAUDHURI, G.: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987), S. 9265–9269
- [2] FURCHGOTT, R. F.: Endothelium-derived relaxing factor: Discovery, early studies, and identification as nitric oxide (nobel lecture). In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 38 (1999), S. 1870–1880
- [3] HOLLEMAN, A. F. ; WIBERG, E. ; WIBERG, N.: *Lehrbuch der Anorganischen Chemie, 91.-100. Auflage.* New York : Walter de Gruyter Berlin, 1985
- [4] GANSER, H. ; URBAN, W. ; BROWN, J. M.: The sensitive detection of NO by Faraday modulation spectroscopy with a quantum cascade laser. In: *Mol. Phys.* 101 (2003), S. 545–550
- [5] GANSER, H. ; HOSTJANN, M. ; SUSCHEK, C. V. ; HERING, P. ; MÜRTZ, M: Online monitoring of biogenic nitric oxide with a QC laser-based Faraday modulation technique. In: *Appl. Phys. B* (2004)
- [6] HANNA, S. F. ; BARRON-JIMENEZ, R. ; ANDERSON, T. N. ; LUCHT, R. P. ; CATON, J. A. ; WALTHER, T.: Diode-laser-based ultraviolet absorption sensor for nitric oxide. In: *Appl. Phys. B: Lasers and Optics* 75 (2002), Nr. 1, S. 113–117
- [7] LISCINSKY, D. S. ; ZABIELSKY, M. F.: In situ resonant ultraviolet absorption of nitric oxide at high pressure. In: *Meas. Sci. Technol.* 11 (2000), S. 912–919
- [8] MENZEL, L. ; KOSTEREV, A. A. ; CURL, R. F. ; TITTEL, F. K. ; GMACHL, C. ; CAPASSO, F. ; SIVCO, D. L. ; BAILLARGEON, J. N. ; HUTCHINSON, A. L. ; CHO, A. Y. ; URBAN, W.: Spectroscopic detection of biological NO with quantum cascade laser. In: *Appl. Phys. B.* 72 (2001), S. 859–863

- [9] NELSON, D. D. ; SHORTER, J. H. ; MCMANUS, J. B. ; ZAHNISER, M. S.: Sub-part-per-billion detection of nitric oxide in air using a thermoelectrically cooled mid-infrared quantum cascade laser spectrometer. In: *Appl. Phys. B* 75 (2002), S. 343–350
- [10] ROLLER, C. ; NAMJOU, K. ; JEFFERS, J. D. ; CAMP, M. ; MOCK, A. ; MCCANN, P. J. ; GREGO, J.: Nitric oxide breath testing by tunable-diode laser absorption spectroscopy: application in monitoring respiratory inflammation. In: *Appl. Opt.* 41 (2002), Nr. 28, S. 6018–6029
- [11] BOLLINGER, M. J. ; BIRKS, J. W. ; GERGORY, J. K. *Nitric oxide detector*. United States Patent. 2000
- [12] HENEGAR, S. N. ; BUI, H. ; BUSH, S. F. ; SISK, W. N.: Nitric oxide chemiluminescence enhancement by substituted benzenes. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 135 (2000), S. 91–102
- [13] ROBINSON, J. K. ; BOLLINGER, M. J. ; BIRKS, J. W.: Luminol/H₂O₂ chemiluminescence detector for the analysis of nitric oxide in exhaled breath. In: *Anal. Chem.* 71 (1999), S. 5131–5136
- [14] BAKHIRKIN, Y. A. ; KOSTEREV, A. A. ; ROLLER, C. ; CURL, R. F. ; TITTEL, F. K.: Mid-infrared quantum cascade laser based off-axis integrated cavity output spectroscopy for biogenic nitric oxide detection. In: *Appl. Opt.* 43 (2004), Nr. 11, S. 2257–2266
- [15] HALMER, D. ; VON BASUM, G. ; HORSTJANN, M. ; HERING, P. ; MÜRTZ, M.: Time resolved simultaneous detection of ¹⁴NO and ¹⁵NO via mid-infrared cavity leak-out spectroscopy. In: *Isotopes in Environmental and Health studies* 41 (2005), Nr. 4, S. 303–311
- [16] KOSTEREV, A. A. ; MALINOVSKY, A. L. ; TITTEL, F. K. ; GMACHL, C. ; CAPASSO, F. ; SIVCO, D. L. ; BAILLARGEON, J. N. ; HUTCHINSON, A. L. ; CHO, A. Y.: Cavity ring-down spectroscopic detection of nitric oxide with a continuous-wave quantum-cascade laser. In: *Appl. Opt.* 40 (2001), Nr. 30, S. 5522–5529
- [17] BLOSS, W. J. ; GRAVESTOCK, T. J. ; HEARD, D. E. ; INGHAM, T. ; JHONSON, G. P. ; LEE, J. D.: Application of a compact all solid-state laser system to the in situ detection of atmospheric OH, HO₂, NO and IO by laser-induced fluorescence. In: *J. Environ. Monit.* 5 (2003), S. 21–28
- [18] BRADSHAW, J. D. ; RODGERS, M. O. ; DAVIS, D. D.: Single photon laser-induced fluorescence detection of NO and SO₂ for atmospheric conditions of composition and pressure. In: *Appl. Opt.* 21 (1982), Nr. 14, S. 2493–2500

- [19] REISEL, J. R. ; LAURENDEAU, N. M.: Quantitative LIF measurement and modelling of nitric oxide in high-pressure $C_2H_4/O_2/N_2$ flames. In: *Combustion and Flame* 101 (1995), S. 141–152
- [20] THOMSEN, D. D. ; LAURENDEAU, N. M.: LIF measurement and modeling of nitric oxide concentration in atmospheric counterflow premixed flames. In: *Combustion and Flame* 124 (2001), S. 350–369
- [21] YOSHIMURA, T. ; YOKOYAMA, H. ; JUJII, S. ; TAKAYAMA, F. ; OIKAWA, K. ; KAMADA, H.: In vivo EPR detection and imaging of endogenous nitric oxide in lipopolysaccharide-treated mice. In: *Nature Biotechnology* 14 (1996), S. 992–994
- [22] CARINI, M. ; ALDINI, G. ; STEFANI, R. ; ORIOLI, M. ; FACINO, R. M.: Nitrosylhemoglobin, an unequivocal index of nitric oxide release from nitroaspirin: in vitro and in vivo studies in the rat by ESR spectroscopy. In: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 26 (2001), S. 509–518
- [23] MÜRTZ, P. ; MENZEL, L. ; BLOCH, W. ; HESS, A. ; MICHEL, O. ; URBAN, W.: LMR spectroscopy: A new sensitive method for on-line recording of nitric oxide in breath. In: *J. Appl. Physiol.* 86 (1999), Nr. 3, S. 1075–1080
- [24] KOCH, M. ; LUO, X. ; MÜRTZ, P. ; URBAN, W. ; MÖRIKE, K.: Detection of small traces of $^{15}N_2$ and $^{14}NO_2$ by Faraday LMR spectroscopy of the corresponding isotopomers of nitric oxide. In: *Appl. Phys. B* 64 (1997), S. 683–688
- [25] SICH, I. ; RUSSOW, R.: ^{15}N analysis of nitric oxide and nitrous oxide by cryotrap enrichment using a gas chromatograph quadrupole mass spectrometer and its application to ^{15}N -tracer investigations of NO/N_2O formation in soil. In: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 13 (1999), S. 1325–1328
- [26] TSIKAS, D. ; BÖGER, R. H. ; BODE-BÖGER, S. M. ; GUTZKI, F.-M. ; FRÖLICH, J. C.: Quantification of nitrite and nitrate in human urine and plasma as pentafluorobenzyl derivatives by gas chromatography-mass spectrometry using their ^{15}N -labelled analogs. In: *Journal of Chromatography B* 661 (1994), S. 185–191
- [27] TSIKAS, D. ; SANDMANN, J. ; SAVVA, A. ; LUESSEN, P. ; BOGER, R. H. ; GUTZKI, F. M. ; MAYER, B. ; FRÖLICH, J. C.: Assessment of nitric oxide synthase activity in vitro and in vivo by gas chromatography-mass spectrometry. In: *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 742 (2000), Nr. 1, S. 143–153

- [28] JACOBS, D. C. ; MADIX, R. J. ; ZARE, R. N.: Reduction of 1+1 resonance enhanced MPI spectra to population distributions: Application to the NO $A^2\Sigma^+ - X^2\Pi$ system. In: *J. Chem. Phys.* 85 (1986), Nr. 10, S. 5469–5479
- [29] LEE, S.-H. ; HIROKAWA, J. ; KAJII, Y. ; AKIMOTO, H.: New method for measuring low NO concentrations using laser induced two photon ionization. In: *Rev. Sci. Instrum.* 68 (1997), S. 2891–2897
- [30] LUO, Y. ; CHENG, Y. D. ; AGREN, H. ; MARIPUU, R. ; SEIBT, W. ; ÖHLUND, L. ; EJEKLINT, P. ; CARMAN, B. ; XING, K. Z. ; ACHIBA, Y. ; SIEGBAHN, K.: Highly excited states of nitric oxide studied by high-resolution resonance-enhanced multiphoton ionization spectroscopy. In: *Chem. Phys.* 153 (1991), S. 473–481
- [31] SIMEONSSON, J. B. ; LEMIRE, G. W. ; SAUSA, R. C.: Laser-induced photofragmentation/photoionization spectrometry: A method for detecting ambient oxides of nitrogen. In: *Anal. Chem.* 66 (1994), S. 2272–2278
- [32] ASSCHER, M. ; HAAS, Y.: Two-photon excitation of nitric oxide to levels near and above the dissociation limit. In: *Chem. Phys. Lett.* 59 (1978), Nr. 2, S. 231–236
- [33] REEVES, M. ; MUSCULUS, M. ; FARELL, P.: Confocal, two-photon laser-induced fluorescence technique for the detection of nitric oxide. In: *Appl. Optics* 37 (1998), Nr. 28, S. 6627–6635
- [34] REEVES, M. ; FARRELL, P. V. ; MUSCULUS, M. P.: Demonstration of a two-photon, confocal laser-induced fluorescence technique for the detection of nitric oxide in atmospheric pressure flows and hydrocarbon-air flames. In: *Meas. Sci. Technol.* 10 (1999), S. 285–292
- [35] SANDHOLM, S. ; SMYTH, S. ; BAI, R. ; BRADSHAW, J.: Recent and future improvements in two-photon laser-induced fluorescence NO measurement capabilities. In: *J. Geophys. Res.* 102 (1997), Nr. D23, S. 28651–28661
- [36] FRUHBERGER, B. ; STIRLING, N. ; GRILLO, F. G. ; MA, S. ; RUTHVEN, D. ; LAD, R. J. ; FREDERICK, B. G.: Detection and quantification of nitric oxide in human breath using a semiconducting oxide based chemiresistive microsensor. In: *Sensors and Actuators B* 76 (2001), S. 226–234
- [37] ZARIFOU, O. C. ; MCFARLAND, M.: Determination of trace levels of nitric oxide in aqueous solution. In: *Anal. Chem.* 52 (1980), S. 1662–1667
- [38] SOLLER, B. R. *Fiber optic sensor for in vivo measurement of nitric oxide*. United States Patent. 1996

- [39] HUANG, K.-J. ; WANG, H. ; ZHANG, Q.-Y. ; MA, M. ; HU, J.-F. ; ZHANG, H.-S.: Direct detection of nitric oxide in human blood serum by use of 1,3,5,7-tetramethyl-8-(3',4'-diaminophenyl) difluoroboradiazas-indacene with HPLC. In: *Anal. Bioanal. Chem.* 384 (2006), S. 1284–1290
- [40] LIQUIDE, Air. *EG-Sicherheitsdatenblatt*. 2005
- [41] OKABE, H.: *Photochemistry of small molecules*. John Wiley & Sons, Inc., 1978. – 171–177 S
- [42] DELANEY, J. J. ; HILLIER, I. H. ; SAUNDERS, V. R.: Photoexcitation and ionisation in nitric oxide: theoretical studies in the static exchange approximation. In: *J. Phys. B: Mol. Phys.* 15 (1982), S. 1477–1486
- [43] McDERMID, S. I. ; LAUDENSLAGER, J. B.: Radiative lifetimes and electronic quenching rate constants for single-photon-excited rotational levels of NO ($A^2\Sigma^+, v' = 0$). In: *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer* 27 (1982), Nr. 5, S. 483–492
- [44] <http://webbook.nist.gov/>. 2006
- [45] STROH, K.: Bodennahes Ozon / Bayerisches Landesamt für Umweltschutz. 2004. – Forschungsbericht
- [46] SMETANA, F. ; SAMPL, H. ; WURM, G. ; BLASCHUN, A. ; REINSPERGER, L. ; MARTH, E.: Lufthygienische Schwerpunktstudie Ferndorf 2001 / Amt der Kärntner Landesregierung, Abteilung 15 - Umweltschutz und Technik. 2001. – Forschungsbericht
- [47] DELMAS, R. ; SERCA, D. ; JAMBERT, C.: Global inventory of NO_x sources. In: *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 48 (1997), S. 51–60
- [48] ANDERSON, I. C. ; LEVINE, J. S.: Relative rates of nitric oxide and nitrous oxide production by nitrifiers, denitrifiers, and nitrate respirers. In: *Appl. Environm. Microbiol.* 51 (1986), Nr. 5, S. 938–945
- [49] HUTCHINSON, G. L. ; GUENZL, W. D. ; LIVINGSTON, G. P.: Soil water controls on aerobic soil emission of gaseous nitrogen oxides. In: *Soil Biology and Biochemistry* 25 (1993), Nr. 1, S. 1–9
- [50] LIPSCHUTZ, F. ; ZARIFOU, O. C. ; WOFSY, S. C. ; McELROY, M. B. ; VALOIS, F. W. ; WATSON, S. W.: Production of nitric oxide and nitrous oxide by soil nitrifying bacteria. In: *Nature* 294 (1981), S. 641–643

- [51] REMDE, A. ; CONRAD, R.: Role of nitrification and denitrification for nitric oxide metabolism in soil. In: *Biogeochemistry* 12 (1991), Nr. 3, S. 189–205
- [52] RUSSOW, R. ; SICH, I. ; NEUE, H.-U.: The formation of the trace gases NO and N₂O in soils by the coupled processes of nitrification and denitrification: results of kinetic ¹⁵N tracer investigations. In: *Chemosphere: Global Change Science* 2 (2000), S. 359–366
- [53] GROVES, J. T. ; WANG, C. C.-Y.: Nitric oxide synthase: models and mechanism. In: *Current Opinion in Chemical Biology* 4 (2000), S. 687–695
- [54] BELIGNI, M. V. ; LAMATTINA, L.: Nitric oxide in plants: the history is just beginning. In: *Plant, Cell and Environment* 24 (2001), S. 267–278
- [55] WENDEHENNE, D. ; PUGIN, A. ; KLESSIG, D. F. ; DURNER, J.: Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. In: *TRENDS in Plant Science* 6 (2001), Nr. 4, S. 177–183
- [56] KNOWLES, R. G. ; MONCADA, S.: Nitric oxide synthases in mammals. In: *Biochem. J.* 298 (1994), S. 249–258
- [57] THOMAS, D. D. ; LIU, X. ; KANTROW, S. P. ; LANCASTER, J. R. J.: The biological lifetime of nitric oxide: implications for the prevascular dynamics of NO and O₂. In: *PNAS* 98 (2001), Nr. 1, S. 355–360
- [58] AHERN, G. P. ; HSU, S.-F. ; JACKSON, M. B.: Direct actions of nitric oxide on rat neurohypophysial K⁺ channels. In: *Journal of Physiology* 520 (1999), S. 165–176
- [59] GOW, A. J. ; STAMLER, J. S.: Reactions between nitric oxide and haemoglobin under physiological conditions. In: *Nature* 391 (1998), S. 169–173
- [60] DANIELAK, J. ; DOMIN, R. ; RYTEL, M. ; ZACHWIEJA, M.: Reinvestigation of the emission γ band system ($A^2\Sigma^+ - X^2\Pi$) of the NO molecule. In: *J. Mol. Spectr.* 181 (1997), S. 394–402
- [61] CROSLEY, D. R. ; ZARE, R. N.: Molecular level-crossing spectroscopy: the g value for an excited state of nitric oxide. In: *Physical Review Letters* 18 (1967), Nr. 22, S. 942–944
- [62] LUQUE, J. ; CROSLEY, D. R. *LIFBASE: Database and spectral simulation (version 1.5)*. SRI International Report MP 99-009. 1999
- [63] BRUNGER, M. J. ; CAMPBELL, L. ; CARTWRIGHT, D. C. ; MIDDLETON, A. G. ; MOJARRABIT, B. ; TEUBNER, T. J. O.: Electron-impact excitation of rydberg and

- valence electronic states of nitric oxide: I. Differential cross sections. In: *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* 33 (2000), S. 783–808
- [64] RABADÁN, I. ; TENNYSON, J.: Ab initio potential energy curves of rydberg, valence and continuum states of NO. In: *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* 30 (1997), S. 1975–1988
- [65] HERZBERG, G.: *Molecular spectra and molecular structure I. Spectra of diatomic molecules*. 2. New York : Van Nostrand Reinhold Company, 1950
- [66] DANIELAK, J. ; KEPA, R. ; ZACHWIEJA, M.: New spectroscopic studies of the γ -band system ($A^2\Sigma^+ - X^2\Pi$) of the $^{15}\text{N}^{16}\text{O}$ molecule. In: *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* 30 (1997), S. 4889–4898
- [67] TIMMERMAN, A. ; WALLENSTEIN, R.: Doppler-free two-photon excitation of nitric oxide with frequency-stabilized cw dye laser radiation. In: *Opt. Commun.* 39 (1981), Nr. 4, S. 239–242
- [68] WESTERN, C. M. *Pgopher 3.75*. 1994
- [69] WINEFORDNER, J. D. ; RUTLEDGE, M.: Comparison of calculated detection limits in molecular absorption, molecular luminescence, raman, molecular ionization and photo-thermal spectrometry. In: *Appl. Spectroscopy* 39 (1985), Nr. 3, S. 377–391
- [70] ZACHARIAS, H. ; DE ROUGEMONT, F. ; HEINZ, T. F. ; LOY, M. M. T.: Ionization probabilities of $A^2\Sigma^+(v' = 0, 1, 2)$ and $B^2\Pi(v' = 0, 2)$ states of NO. In: *J. Chem. Phys.* 105 (1996), Nr. 1, S. 111–117
- [71] LUQUE, J. ; CROSLEY, D.R.: Radiative and predissociative rates for NO $A^2\Sigma^+v' = 0-5$ and $D^2\Sigma^+v' = 0-3$. In: *J. Chem. Phys.* 112 (2000), Nr. 21, S. 9411–9416
- [72] LUQUE, J. ; CROSLEY, D. R.: Transition probabilities and electronic transition moments of the $A^2\Sigma^+ - X^2\Pi$ and $D^2\Sigma^+ - X^2\Pi$ systems of nitric oxide. In: *Journal of Chemical Physics* 111 (1999), Nr. 16, S. 7405–7415
- [73] LAUENSTEIN, Jörg: *In situ Nachweis von ^{15}NO in der Atemluft*. Diplomarbeit TU-Braunschweig, 2002
- [74] BURRIS, J. ; MCGEE, T. J. ; MCILRATH, T. J.: A two-photon absorption cross section measurement in nitric oxide. In: *Chemical Physics Letters* 101 (1983), Nr. 6, S. 588–592
- [75] NIESNER, R. A.: *New advancements in highly sensitive time-resolved fluorescence two-photon microscopy - theoretical approaches and bioscientific applications*, Technische Universität Braunschweig, Diss., 2005

- [76] PAUL, P. H. ; GRAY, J. A. ; DURANT JR., J. L. ; THOMAN JR., J. W.: Collisional electronic quenching rates for $\text{NO } A^2\Sigma^+(v' = 0)$. In: *Chem. Phys. Lett.* 259 (1996), S. 508–514
- [77] FLUCK ; HEUMANN. *Periodensystem der Elemente*. VCH Verlagsgesellschaft. 1995
- [78] LIPPMANN, H. H. ; JESSER, B. ; SCHURATH, U.: The rate constant of $\text{NO} + \text{O}_3 \rightarrow \text{NO}_2 + \text{O}_2$ in the temperature range of 283–443 K. In: *International Journal of Chemical Kinetics* 7 (1980), S. 547–554
- [79] BORDERS, R. A. ; BIRKS, J. W.: High-precision measurements of activation energies over small temperature intervals: curvature in the Arrhenius plot for the reaction $\text{NO} + \text{O}_3 \rightarrow \text{NO}_2 + \text{O}_2$. In: *J. Phys. Chem* 86 (1982), S. 3295–3302
- [80] LEE, P. ; DAVIDSON, J.: Evaluation of activated carbon filters for removal of ozone at the ppb level. In: *American Industrial Hygiene Association Journal* 60 (1999), S. 589–600
- [81] JONES, I. T. N. ; BAYES, K. D.: Photolysis of nitrogen dioxide. In: *Journal of Chemical Physics* 59 (1973), Nr. 9, S. 4836–4844
- [82] MÉRIENNE, M. F. ; JENOUVRIER, A. ; COQUART, B.: The NO_2 absorption spectrum. I: Absorption cross-sections at ambient temperature in the 300–500 nm region. In: *Journal of Atmospheric Chemistry* 20 (1995), S. 281–297
- [83] MADRONICH, S. ; HASTIE, D. R. ; RIDLEY, B. A. ; SCHIFF, H. I.: Calculation of the temperature dependence of the NO_2 photodissociation coefficient in the atmosphere. In: *Journal of Atmospheric Chemistry* 1 (1984), S. 151–157
- [84] ROEHL, C. M. ; ORLANDO, J. J. ; TYNDALL, G. S. ; SHETTER, R. E. ; VÁZQUEZ, G. J. ; CANTRELL, C. A. ; CALVERT, J. G.: Temperature dependence of the quantum yields for the photolysis of NO_2 near the dissociation limit. In: *J. Phys. Chem.* 98 (1994), S. 7837–7843
- [85] JENOUVRIER, A. ; COQUART, B. ; MERIENNE, M. F.: The NO_2 absorption spectrum. III: the 200–300 nm region at ambient temperature. In: *Journal of Atmospheric Chemistry* 25 (1996), S. 21–32
- [86] BASS, A. M. ; LEDFORD, A. E. J. ; LAUFER, A. H.: Extinction coefficients of NO_2 and N_2O_4 (atmospheric solar radiation absorption). In: *J. Res. Natl. Bur. Stand.* 80A (1976), S. 143–166

- [87] SANCHEZ, J. M. ; SACKS, R. D.: Development of a multibed sorption trap, comprehensive two-dimensional gas chromatography, and time-of-flight mass spectrometry system for the analysis of volatile organic compounds in human breath. In: *Analytical Chemistry* 78 (2006), S. 3046–3054
- [88] MANOLI, A.: The diagnostic potential of breath analysis. In: *Clinical Chemistry* 29 (1983), Nr. 1, S. 5–15
- [89] SCHUBERT, J. K. ; MIEKISCH, W. ; NÖLDGE-SCHOMBURG, G. F. E.: VOC breath markers in critically ill patients: potential and limitations. In: AMANN, A. (Hrsg.) ; SMITH, D. (Hrsg.): *Breath analysis for clinical diagnosis and therapeutic monitoring*. Singapore : World Scientific, 2005, Kapitel C, S. 267–292
- [90] PHILIPS, M.: Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. In: *Analytical Biochemistry* 247 (1997), Nr. 2, S. 272–278
- [91] MÜRTZ, M.: Breath diagnostics using laser spectroscopy. In: *Optics and Photonics News* 16 (2005), S. 30–35
- [92] FENSKE, J. D. ; PAULSON, S. E.: Human breath emission of VOCs. In: *Journal of the Air and Waste Management Association* 49 (1999), S. 594–598
- [93] TAYLOR, L. E.: *Drunk driving defense*. 5. Aspen Publishers Inc., 2000
- [94] SCHRADER, C.: *Untersuchungen von Hochfrequenzentladungen an mikrostrukturierten Elektrodensystemen (MSE) zur Oberflächenmodifikation*, Technische Universität Braunschweig, Diss., 2006
- [95] SCHEFFLER, P.: *Mikroelektroden-Arrays als nicht thermische Plasmasquelle für einen weiten Druckbereich bis 1000 mbar*, Technische Universität Braunschweig, Diss., 2001
- [96] ROTH, J. R.: *Industrial plasma engineering*. Bristol : IOP Publishing, 1995
- [97] RAIZER, Y. P.: *Gas discharge physics*. Berlin, Heidelberg : Springer Verlag, 1997
- [98] PASCHEN, F.: In: *Ann. Phys. Chem.* 37 (1889), S. 69–96
- [99] INGLE JR., J.D. ; CROUCH, S.R.: *Spectrochemical analysis*. Englewood Cliffs : Prentice Hall, 1988
- [100] INSTRUMENTS, National. *LabVIEW 5.0*. 1998
- [101] HUBER, K. P. ; HERZBERG, G.: *Molecular spectra and molecular structure IV. Constants of diatomic molecules*. Van Nostrand Reinhold Company, 1979. – 466–480 S

- [102] NEE, J. B. ; JUAN, C. Y. ; HSU, J. Y. ; YANG, J. C. ; CHEN, W. J.: The electronic quenching rates of $\text{NO}(\text{A}^2\Sigma^+, v'=0-2)$. In: *Chem. Phys.* 300 (2004), S. 85–92
- [103] ALLAN, D. W.: The statistics of atomic frequency standards. In: *Proc. IEEE* 54 (1966), Nr. 2, S. 221–230
- [104] BARNES, J. A. ; CHI, A. R. ; CUTLER, L. S. ; HEALEY, D. J. ; LEESON, D. B. ; MCGUNIGAL, T. E. ; MULLEN, J. A. ; SMITH, W. L. ; SYDNOR, R. L. ; VESSOT, R. F. C. ; WINKLER, G. M. R.: Characterization of frequency stability. In: *IEEE Trans. Instrum. Meas.* IM-20 (1971), Nr. 2, S. 105–120
- [105] BARNES, J. A. ; ALLAN, D. W.: Variances based on data with dead time between the measurements. In: *Nist Technical Note* 1318 (1990)
- [106] MAKDISSI, A. *AlaVAR 5.2*. 2003
- [107] DOCUMENTS, American Thoracic S.: ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 171 (2005), S. 912–930
- [108] KHARITONOV, S. ; ALVING, K. ; BARNES, P. J.: ERS task force report; Exhaled and nasal nitric oxide measurements: Recommendations. In: *Eur. Respir. J.* 10 (1997), S. 1683–1693
- [109] DUBOIS, A. ; DOUGLAS, J. S. ; STITT, V: Production and absorption of nitric oxide gas in the nose. In: *J. Appl. Physiol.* 84 (1998), Nr. 4, S. 1217–1224
- [110] DJUPESLAND, P. G. ; QIAN, W. ; HAIGHT, J. S. J.: A new method for the remote collection of nasal and exhaled nitric oxide. In: *Chest* 150 (2001), Nr. 5, S. 1645–1650
- [111] TSOUKIAS, N. M. ; TANNOUS, Z. ; WILSON, A. F. ; GEORGE, S. C.: Single-exhalation profiles of NO and CO_2 in humans: Effect of dynamically changing flow rate. In: *J. Appl. Physiol.* 85 (1998), Nr. 2, S. 642–652
- [112] DELCLAUX, C. ; MAHUT, B. ; ZERAH-LANCNER, F. ; DELACOURT, C. ; LAOUD, S. ; CHERQUI, D. ; DUVOUX, C. ; HARF, A.: Increased nitric oxide output from alveolar origin during liver cirrhosis versus bronchial source during asthma. In: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 165 (2002), S. 332–337
- [113] GUO, F. H. ; COMHAIR, S. A. A. ; ZHENG, S. ; DWEIK, R. A. ; EISSA, N. T. ; THOMASSEN, M. J. ; CALHOUN, W. ; ERZURUM, S. C.: Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: Evidence for transcriptional and post-translational regulation of NO synthesis. In: *Journal of Immunology* 164 (2000), S. 5970–5980

- [114] SMITH, A. D. ; COWAN, J. O. ; BRASSET, K. P. ; HERBISON, G. P. ; TAYLOR, D. R.: Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. In: *N. Engl. J. Med.* 352 (2005), Nr. 21, S. 2163–2173
- [115] WELLER, R.: Nitric oxide - a newly discovered chemical transmitter in human skin. In: *British Journal of Dermatology* 137 (1997), S. 665–672
- [116] WELLER, R. ; PATTULO, S. ; SMITH, L. ; GOLDEN, M. ; ORMEROD, A. ; BENJAMIN, N.: Nitric oxide is generated on the skin surface by reduction of sweat nitrate. In: *J. Inverstigative Dermatology* 107 (1996), Nr. 3, S. 327–331
- [117] PLANCHET, E. ; KAISER, W. M.: Nitric oxide production in plants. In: *Plant Signaling & Behavior* 1 (2006), Nr. 2, S. 46–51
- [118] KAISER, W. M. *Persönliche Mitteilung.* 2006
- [119] VESELOV, A. A. *Persönliche Mitteilung.* 2005
- [120] BAARS-HIBBE, L. ; GERICKE, K.-H. ; LAUENSTEIN, J. *Verfahren und Vorrichtung zur Messung von Stickstoffmonoxid-Konzentrationen.* zum Patent angemeldet, Aktenzeichen 10 2004 035 916.4-52. 2004

Kapitel 7

Anhang

Tab. 7-1: Die im Umfang dieser Arbeit untersuchten Probanden.

Proband	Geschlecht	Alter / Jahre	Bemerkungen
1	männlich	29	-
2	männlich	25	-
3	männlich	59	-
4	männlich	55	-
5	weiblich	24	-
6	männlich	30	-
7	männlich	24	Asthmatiker

J'	P ₁₂	P ₂₂	Q ₁₂	Q ₂₂	R ₁₂	R ₂₂	P ₁₁	Q ₁₁	P ₂₁	R ₁₁	Q ₂₁	R ₂₁
0,5	-	-	-	-	-	-	-	226,2449	-	226,2291	226,2291	226,1886
1,5	226,8907	226,8703	226,8703	226,8293	226,8293	226,7680	226,2752	226,2548	226,2548	226,2141	226,2141	226,1532
2,5	226,9145	226,8737	226,8737	226,8124	226,8124	226,7306	226,2975	226,2570	226,2570	226,1959	226,1959	226,1146
3,5	226,9356	226,8742	226,8742	226,7925	226,7925	226,6904	226,3169	226,2560	226,2560	226,1745	226,1745	226,0732
4,5	226,9540	226,8720	226,872	226,7699	226,7699	226,6475	226,3329	226,2517	226,2517	226,1498	226,1498	226,0283
5,5	226,9695	226,8672	226,8672	226,7447	226,7447	226,6019	226,3455	226,2441	226,2441	226,1219	226,1219	225,9803
6,5	226,9824	226,8597	226,8597	226,7168	226,7168	226,5533	226,3552	226,2335	226,2335	226,0909	226,0909	225,9291
7,5	226,9926	226,8492	226,8492	226,6860	226,6860	226,5024	226,3615	226,2197	226,2197	226,0567	226,0567	225,8748
8,5	226,9998	226,8361	226,8361	226,6525	226,6525	226,4486	226,3647	226,2024	226,2024	226,0193	226,0193	225,8171
9,5	227,0044	226,8201	226,8201	226,6160	226,6160	226,3921	226,3647	226,1823	226,1823	225,9788	225,9788	225,7564
10,5	227,0062	226,8017	226,8017	226,5774	226,5774	226,3329	226,3615	226,1588	226,1588	225,9352	225,9352	225,6927
11,5	227,0052	226,7801	226,7801	226,5356	226,5356	226,2711	226,3550	226,1323	226,1323	225,8884	225,8884	225,6257
12,5	227,0013	226,7559	226,7559	226,4910	226,4910	226,2063	226,3455	226,1025	226,1025	225,8382	225,8382	225,5559
13,5	226,9948	226,7289	226,7289	226,4437	226,4437	226,1391	226,3327	226,0695	226,0695	225,7850	225,7850	225,4826
14,5	226,9853	226,6994	226,6994	226,3938	226,3938	226,0690	226,3167	226,0334	226,0334	225,7288	225,7288	225,4065
15,5	226,9729	226,6666	226,6666	226,3409	226,3409	225,9963	226,2975	225,9941	225,9941	225,6696	225,6696	225,3274
16,5	226,9579	226,6314	226,6314	226,2856	226,2856	225,9208	226,2752	225,9517	225,9517	225,6070	225,6070	225,2449
17,5	226,9402	226,5934	226,5934	226,2272	226,2272	225,8425	226,2497	225,9061	225,9061	225,5416	225,5416	225,1598
18,5	226,9193	226,5524	226,5524	226,1663	226,1663	225,7618	226,2211	225,8576	225,8576	225,4729	225,4729	225,0713
19,5	226,8958	226,5087	226,5087	226,1025	226,1025	225,6781	226,1893	225,8057	225,8057	225,4014	225,4014	224,9801
20,5	226,8694	226,4622	226,4622	226,0361	226,0361	225,5917	226,1544	225,7509	225,7509	225,3264	225,3264	224,8858
21,5	226,8403	226,4127	226,4127	225,9667	225,9667	225,5028	226,1166	225,6929	225,6929	225,2488	225,2488	224,7885
22,5	226,8083	226,3605	226,3605	225,8947	225,8947	225,4111	226,0753	225,6320	225,6320	225,1681	225,1681	224,6881
23,5	226,7733	226,3057	226,3057	225,8197	225,8197	225,3165	226,0312	225,5680	225,5680	225,0844	225,0844	224,5848
24,5	226,7355	226,2480	226,2480	225,7421	225,7421	225,2195	225,9839	225,5008	225,5008	224,9976	224,9976	224,4788
25,5	226,6948	226,1874	226,1874	225,6618	225,6618	225,1196	225,9335	225,4307	225,4307	224,9078	224,9078	224,3697
26,5	226,6513	226,1241	226,1241	225,5789	225,5789	225,0172	225,8801	225,3575	225,3575	224,8152	224,8152	224,2576
27,5	226,6050	226,0579	226,0579	225,4928	225,4928	224,9120	225,8326	225,2813	225,2813	224,7197	224,7197	224,1429
28,5	226,5558	225,9888	225,9888	225,4043	225,4043	224,8041	225,7639	225,2023	225,2023	224,6209	224,6209	224,0253
29,5	226,5036	225,9170	225,9170	225,3128	225,3128	224,6935	225,7011	225,1200	225,1200	224,5196	224,5196	223,9048
30,5	226,4486	225,8423	225,8423	225,2188	225,2188	224,5802	225,6356	225,0349	225,0349	224,4150	224,4150	223,7813
31,5	226,3906	225,7649	225,7649	225,1220	225,1220	224,4643	225,5688	224,9469	224,9469	224,3078	224,3078	223,6550
32,5	226,3300	225,6846	225,6846	225,0223	225,0223	224,3457	225,4952	224,8557	224,8557	224,1975	224,1975	223,5262
33,5	226,2665	225,6015	225,6015	224,9200	224,9200	224,2244	225,4203	224,7616	224,7616	224,0845	224,0845	223,3943
34,5	226,1998	225,5156	225,5156	224,8150	224,8150	224,1005	225,3427	224,6648	224,6648	223,9688	223,9688	223,2597
35,5	226,1304	225,4271	225,4271	224,7070	224,7070	223,9739	225,2619	224,5649	224,5649	223,8500	223,8500	223,1224
36,5	226,0581	225,3354	225,3354	224,5967	224,5967	223,8449	225,1782	224,4621	224,4621	223,7285	223,7285	222,9824
37,5	225,9832	225,2413	225,2413	224,4832	224,4832	223,7129	225,0917	224,3566	224,3566	223,6041	223,6041	222,8396

Abb. 7-1: Die simulierten Übergänge 1.

J''	P ₁₂	P ₂₂	Q ₁₂	Q ₂₂	R ₁₂	R ₂₂	P ₁₁	Q ₁₁	P ₂₁	R ₁₁	Q ₂₁	R ₂₁
38,5	225,9051	225,1441	225,1441	224,3673	224,3673	223,5786	225,0019	224,2479	224,2479	223,4770	223,4770	222,6941
39,5	225,8243	225,0444	225,0444	224,2487	224,2487	223,4413	224,9093	224,1366	224,1366	223,3470	223,3470	222,5462
40,5	225,7407	224,9416	224,9416	224,1274	224,1274	223,3016	224,8140	224,0224	224,0224	223,2143	223,2143	222,3953
41,5	225,6541	224,8363	224,8363	224,0032	224,0032	223,1595	224,7155	223,9052	223,9052	223,0787	223,0787	222,2418
42,5	225,5646	224,7279	224,7279	223,8764	223,8764	223,0145	224,6141	223,7852	223,7852	222,9407	222,9407	222,0856
43,5	225,4722	224,6171	224,6171	223,7469	223,7469	222,8670	224,5099	223,6625	223,6625	222,7998	222,7998	221,9268
44,5	225,3771	224,5033	224,5033	223,6150	223,6150	222,7171	224,4027	223,5371	223,5371	222,6563	222,6563	221,7655
45,5	225,2792	224,3867	224,3867	223,4801	223,4801	222,5646	224,2928	223,4086	223,4086	222,5100	222,5100	221,6015
46,5	225,1782	224,2676	224,2676	223,3426	223,3426	222,4094	224,1798	223,2776	223,2776	222,3614	222,3614	221,4352
47,5	225,0747	224,1456	224,1456	223,2024	223,2024	222,2517	224,0641	223,1437	223,1437	222,2093	222,2093	221,2661
48,5	224,9682	224,0207	224,0207	223,0605	223,0605	222,0914	223,9455	223,0070	223,0070	222,0551	222,0551	221,0944
49,5	224,8589	223,8934	223,8934	222,9153	222,9153	221,9287	223,8240	222,8677	222,8677	221,8981	221,8981	
50,5	224,7468	223,7631	223,7631	222,7666	222,7666	221,7635	223,6998	222,7256	222,7256	221,7385	221,7385	
51,5	224,6319	223,6302	223,6302	222,6160	222,6160	221,5957	223,5728	222,5808	222,5808	221,5766	221,5766	
52,5	224,5140	223,4947	223,4947	222,4627	222,4627	221,4255	223,4428	222,4334	222,4334	221,4116	221,4116	
53,5	224,3935	223,3564	223,3564	222,3070	222,3070	221,2528	223,3104	222,2830	222,2830	221,2438	221,2438	
54,5	224,2702	223,2155	223,2155	222,1487	222,1487	221,0777	223,1748	222,1302	222,1302	221,0746	221,0746	
55,5	224,1441	223,0719	223,0719	221,9886	221,9886		223,0365	221,9748	221,9748			
56,5	224,0151	222,9255	222,9255	221,8251	221,8251		222,8956	221,8167	221,8167			
57,5	223,8837	222,7766	222,7766	221,6585	221,6585		222,7521	221,6559	221,6559			
58,5	223,7493	222,6250	222,6250	221,4900	221,4900		222,6056	221,4927	221,4927			
59,5	223,6120	222,4707	222,4707	221,3190	221,3190		222,4564	221,3265	221,3265			
60,5	223,4721	222,3141	222,3141	221,1454	221,1454		222,3046	221,1580	221,1580			
61,5	223,3295	222,1545	222,1545				222,1501					
62,5	223,1842	221,9925	221,9925				221,9930					
63,5	223,0361	221,8278	221,8278				221,8332					
64,5	222,8854	221,6607	221,6607				221,6709					
65,5	222,7319	221,4909	221,4909				221,5057					
66,5	222,5760	221,3185	221,3185				221,3379					
67,5	222,4171	221,1437	221,1437				221,1667					
68,5	222,2556											
69,5	222,0917											
70,5	221,9250											
71,5	221,7555											
72,5	221,5838											
73,5	221,4092											
74,5	221,2322											
75,5	221,0525											

Abb. 7-2: Die simulierten Übergänge 2.

J''	O ₁₂	O ₂₂ +P ₁₂	P ₂₂ +Q ₁₂	Q ₂₂ +R ₁₂	R ₂₂ +S ₁₂	S ₂₂	O ₁₁	P ₁₁ +O ₂₁	Q ₁₁ +P ₂₁	R ₁₁ +Q ₂₁	S ₁₁ +R ₂₁	S ₂₁
0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	226,23784	226,19713	226,13619
1,5	-	-	226,87892	226,83806	226,77672	226,69503	-	226,28388	226,2634	226,22288	226,1618	226,08063
2,5	226,94367	226,9232	226,88229	226,82101	226,73924	226,63718	226,32654	226,30638	226,26549	226,20472	226,12327	226,02189
3,5	226,98524	226,94428	226,88292	226,80122	226,69904	226,57663	226,36612	226,32567	226,26436	226,18334	226,08156	225,95998
4,5	227,02406	226,96262	226,8808	226,77869	226,65612	226,51339	226,4025	226,34174	226,26002	226,15877	226,03665	225,89491
5,5	227,06014	226,97821	226,87593	226,75342	226,61048	226,44746	226,43567	226,3546	226,25246	226,13099	225,98857	225,8267
6,5	227,09347	226,99104	226,86831	226,72542	226,56212	226,37884	226,46563	226,37068	226,2417	226,10001	225,93732	225,75534
7,5	227,12404	227,00111	226,85793	226,69468	226,51105	226,30754	226,49237	226,37068	226,22774	226,06586	225,88291	225,68086
8,5	227,15184	227,00842	226,8448	226,6612	226,45726	226,23356	226,51591	226,3739	226,21058	226,02852	225,82535	225,60326
9,5	227,17687	227,01295	226,8289	226,62498	226,40076	226,1569	226,53624	226,37392	226,19023	225,98801	225,76465	225,52255
10,5	227,19911	227,0147	226,81024	226,58601	226,34154	226,07756	226,55336	226,37073	226,1667	225,94434	225,70082	225,43877
11,5	227,21855	227,01367	226,7888	226,5443	226,2796	225,99556	226,56727	226,36435	226,13998	225,89752	225,63388	225,3519
12,5	227,2352	227,00985	226,76459	226,49984	226,21496	225,91088	226,57799	226,35478	226,1101	225,84755	225,56383	225,26198
13,5	227,24903	227,00322	226,7376	226,45263	226,1476	225,82354	226,58551	226,34202	226,07706	225,79446	225,49069	225,16901
14,5	227,26004	226,9938	226,70783	226,40267	226,07752	225,73353	226,58983	226,32609	226,04087	225,73824	225,41448	225,07302
15,5	227,26823	226,98156	226,67527	226,34996	226,00473	225,64085	226,59096	226,30698	226,00153	225,67892	225,3352	224,97401
16,5	227,27358	226,96651	226,63992	226,29449	225,92922	225,54552	226,58891	226,28471	225,95906	225,6165	225,25287	224,872
17,5	227,27608	226,94864	226,60177	226,23626	225,85101	225,44752	226,58368	226,25928	225,91347	225,55099	225,16751	224,76702
18,5	227,2752	226,92793	226,56082	226,17528	225,77008	225,34687	226,57528	226,2307	225,86476	225,48242	225,07914	224,65907
19,5	227,27252	226,9044	226,51707	226,11153	225,68643	225,24357	226,5637	226,19898	225,81295	225,41078	224,98775	224,54818
20,5	227,26644	226,87802	226,47052	226,04503	225,60008	225,13762	226,54897	226,16413	225,75805	225,3361	224,89338	224,43436
21,5	227,25749	226,8488	226,42115	225,97577	225,51102	225,02902	226,53108	226,12615	225,70007	225,25838	224,79603	224,31762
22,5	227,24565	226,81673	226,36898	225,90374	225,41925	224,91778	226,51004	226,08506	225,63902	225,17764	224,69573	224,198
23,5	227,23093	226,78181	226,31399	225,82896	225,32478	224,80391	226,48586	226,04086	225,57491	225,0939	224,59248	224,0755
24,5	227,21331	226,74403	226,25619	225,75141	225,2276	224,68739	226,45854	225,99356	225,50776	225,00716	224,48631	223,95014
25,5	227,19279	226,70339	226,19557	225,6711	225,12772	224,56826	226,4281	225,94318	225,43757	224,91745	224,37722	223,82194
26,5	227,16936	226,65989	226,13214	225,58804	225,02515	224,44649	226,39453	225,88971	225,36435	224,82477	224,26524	223,69092
27,5	227,14303	226,61352	226,06589	225,50221	224,91989	224,32211	226,35785	225,83318	225,28813	224,72914	224,15038	223,55709
28,5	227,11378	226,56428	225,99682	225,41364	224,81193	224,19512	226,31806	225,77359	225,2089	224,63057	224,03265	223,42048
29,5	227,0816	226,51217	225,92493	225,32231	224,7013	224,06552	226,27517	225,71095	225,12668	224,52908	223,91208	223,2811
30,5	227,04651	226,45719	225,85023	225,22823	224,58798	223,93332	226,22919	225,64527	225,04149	224,42468	223,78867	223,13897
31,5	227,00849	226,39934	225,77271	225,1314	224,47199	223,79854	226,18013	225,57655	224,95333	224,31738	223,66245	222,9941
32,5	226,96754	226,33862	225,69238	225,03183	224,35333	223,66116	226,12799	225,50482	224,86222	224,2072	223,53343	222,84653
33,5	226,92366	226,27502	225,60924	224,92952	224,232	223,52121	226,07278	225,43008	224,76817	224,09415	223,40162	222,69625
34,5	226,87684	226,20854	225,52329	224,82448	224,10802	223,3787	226,0145	225,35234	224,67119	223,97825	223,26705	222,5433
35,5	226,82709	226,1392	225,43453	224,71671	223,98139	223,23362	225,95318	225,27161	224,5713	223,85951	223,12973	222,38708
36,5	226,7744	226,06698	225,34297	224,60621	223,85212	223,08599	225,88881	225,18789	224,4685	223,73795	222,98967	222,22942
37,5	226,71878	225,99189	225,24861	224,49299	223,72021	222,93582	225,8214	225,10121	224,36281	223,61358	222,84689	222,06854
38,5	226,66022	225,91393	225,15145	224,37706	223,58568	222,78311	225,75096	225,01157	224,25424	223,48641	222,70141	221,90505
39,5	226,59872	225,83311	225,0515	224,25842	223,44852	222,62789	225,67751	224,91898	224,1428	223,35646	222,55325	221,73897
40,5	226,53428	225,74942	224,94877	224,13708	223,30876	222,47015	225,60104	224,82351	224,02851	223,2374	222,40241	221,57032
41,5	-	225,66287	224,84325	-	223,16639	222,30991	225,52157	224,725	223,91138	223,08827	222,24892	221,39912
42,5	-	225,57346	224,73495	-	223,02143	222,14718	225,4391	224,62363	-	222,95006	222,09279	-
43,5	-	-	-	-	-	-	225,35365	224,51936	-	222,80914	221,93404	-
44,5	-	-	-	-	-	-	225,26522	224,41219	-	222,6655	221,77268	-

Abb. 7-3: Die simulierten Übergänge 3.

Abbildungsverzeichnis

2-1	Das Molekülorbital-Diagramm von NO.	8
2-2	Die mesomeren Grenzstrukturen von NO.	8
2-3	Die NO Synthase Reaktion.[53]	11
2-4	Die Hundschen Kopplungsfälle (a) und (b) als Vektordiagramm.	16
2-5	Experimentell bestimmtes Absorptionsspektrum von NO im ultravioletten Spektralbereich.[41]	19
2-6	Ein mit <i>LIFBASE</i> simuliertes Absorptionsspektrum von NO im ultravioletten Spektralbereich. Es wurden nicht alle möglichen Übergänge berücksichtigt.[62]	20
2-7	Experimentell bestimmtes Absorptionsspektrum von NO im VUV-Bereich.[41]	20
2-8	Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabsgetreu dargestellt und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (a).[65]	22
2-9	Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabsgetreu dargestellt und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (b).[65]	24
2-10	Fortrat-Diagramm der NO $\gamma(0,0)$ -Bande.	26
2-11	Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 225,09 nm bis 225,73 nm. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen. Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 3 GHz.[62]	27
2-12	Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 225,73 nm bis 226,37 nm. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen. Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 3 GHz.[62]	28

2-13	Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 226,37 nm bis 227,01 nm. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen. Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 3 GHz.[62]	29
2-14	Simulierte Spektren von ^{14}NO und ^{15}NO . Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 3 GHz.[68]	35
2-15	Die Potentialkurven von NO.[41]	38
2-16	Die Detektionsoptik im Detail.	40
2-17	Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls bei einer Zwei-Photonen-Anregung. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabsgetreu wiedergegeben und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (a).[65]	44
2-18	Die möglichen Übergänge der γ -Bande des NO-Moleküls bei einer Zwei-Photonen-Anregung. Die Aufspaltungen sind nicht maßstabsgetreu wiedergegeben und gelten nur für NO im Hundschen Kopplungsfall (b).[65]	45
2-19	Fortrat-Diagramm bei einer 2-Photonen-Anregung von NO.	46
2-20	Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 225,36 nm bis 226,00 nm bei einer 2-Photonen-Anregung. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen.[68]	47
2-21	Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 226,00 nm bis 226,64 nm bei einer 2-Photonen-Anregung. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen.[68]	48
2-22	Simuliertes Absorptionsspektrum von NO im Bereich von 226,64 nm bis 227,28 nm bei einer 2-Photonen-Anregung. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur Übergänge berücksichtigt, deren relative Intensität über 1 % liegt. Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Linien im gemessenen Spektrum im Rauschen untergehen.[68]	49
2-23	Simulierte Übergänge von ^{14}NO und ^{15}NO . Die Halbwertsbreite der Linien entspricht 6 GHz.[68]	50
2-24	Abklingkurve der Fluoreszenzintensität.	54
2-25	Simulation der Druckabhängigkeit der Signalintensität.	57
2-26	Die zu erwartende Abklingkurve der Fluoreszenz.	59

2-27	Die bei der Reaktion $NO + O_3 \rightarrow NO_2 + O_2$ umgesetzte Menge an NO, bezogen auf die Ausgangskonzentration.	66
2-28	Die bei der Reaktion $2NO + O_2 \rightarrow 2NO_2$ umgesetzte Menge an NO, bezogen auf die Ausgangskonzentration.	67
2-29	Das Absorptionsspektrum von NO_2 bei 298 K.[86]	68
2-30	Spannungs-Strom-Charakteristik einer Gleichspannungsentladung bei Drücken bis 100 mbar.[96]	76
2-31	Experimentelle DC Paschen-Kurven für verschiedene Gase.[97]	77
3-1	Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus.	81
3-2	Schematischer Aufbau der Gasversorgung.	83
3-3	Schematischer Aufbau eines Boxcar Integrators.[99]	85
3-4	Schematische Darstellung des Standardadditionsverfahrens.	87
3-5	Schematischer Aufbau zum Betreiben und Vermessen von Spektrallampen. .	89
3-6	Die Halterung für die Spektrallampen mit den elektrischen Anschlüssen im Detail.	90
4-1	Vergleich eines gemessenen ^{15}NO -Spektrums mit einem simulierten Spektrum. Die Linienbreite des simulierten Spektrums entspricht 3 GHz.[68]	92
4-2	Gemessenes LIF Spektrum von NO im Bereich von 225,325 nm bis 225,965 nm.	93
4-3	Gemessenes LIF Spektrum von NO im Bereich von 225,965 nm bis 226,605 nm.	94
4-4	Vergleich eines gemessenen Zwei-Photonen- ^{15}NO -Spektrums mit einem simulierten Spektrum. Die Linienbreite des simulierten Spektrums entspricht 6 GHz.[68] .	95
4-5	Gemessenes 2-Photonen-LIF Spektrum von NO im Bereich von 225,59 nm bis 226,23 nm.	96
4-6	Gemessenes 2-Photonen-LIF Spektrum von NO im Bereich von 226,23 nm bis 226,87 nm.	97
4-7	Die gemessene druckabhängige Signalintensität von verschiedenen Gasmischungen.	99
4-8	Die gemessene druckabhängige Signalintensität von verschiedenen Gasmischungen.	101
4-9	Stern-Volmer Plot zur Ermittlung der Fluoreszenzlöschungskonstante von CO_2 .	103
4-10	Stern-Volmer Plot zur Ermittlung der Fluoreszenzlöschungskonstante von O_2 .	104
4-11	Stern-Volmer Plot zur Ermittlung der Fluoreszenzlöschungskonstante von H_2O .	104
4-12	Die experimentell bestimmte druckabhängige Fluoreszenzlebensdauer. Die Daten wurden visuell erfasst.	105
4-13	Die experimentell bestimmte druckabhängige Fluoreszenzlebensdauer. Die Messpunkte resultieren aus einer Anpassung an detektierte Fluoreszenzabklingkurve.	106

4-14	Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei starken Signalen, abhängig von der Photomultiplier-Spannung. Zur besseren Übersicht wurden die Messpunkte mit einem <i>Spline</i> verbunden.	108
4-15	Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei starken Signalen, abhängig vom Boxcar Abschlusswiderstand.	109
4-16	Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei schwachen Signalen, abhängig vom Boxcar Abschlusswiderstand. Zur besseren Übersicht wurden die Messpunkte mit einem <i>Spline</i> verbunden.	110
4-17	Die experimentell ermittelte Nachweisgrenze.	111
4-18	Darstellung der ALLAN-Varianz in Abhängigkeit von der Mittelungszeit. . . .	113
4-19	Die gemessene Linienbreite.	114
4-20	Die frequenzabhängige Leistung des Excimer-Lasers.	116
4-21	Die spannungsabhängige Signalintensität der verwendeten Photomultiplier. .	117
4-22	Die Signalantwort des Boxcar Integrators bei einem konstanten Eingangssignal. Die Farben kennzeichnen die verschiedenen Versuchstage.	118
4-23	Die Signalintensität abhängig von der Boxcarsensitivität.	119
4-24	Die Signalintensität einer Gasmischung bei möglichst gleichen Verhältnissen. Die Farben kennzeichnen die verschiedenen Versuchstage.	120
4-25	Kalibriergerade für die Detektion von ^{14}NO	122
4-26	Kalibriergerade für die Detektion von ^{15}NO	122
4-27	Die gemessenen Rohdaten und die Auswertung mit Hilfe des Standardadditionsverfahrens. Die Signalintensität wurde mit der Laserintensität gewichtet. .	123
4-28	^{15}NO Gehalt in der Atemluft von Probanden nach Einnahme von ^{15}N -dotiertem L-Arginin. Zur Übersichtlichkeit wurden die Messpunkte mit einem <i>B-Spline</i> verbunden. Die unterschiedlichen Fehlerbalken resultieren aus den unterschiedlichen Messmethoden.	125
4-29	^{14}NO -Gehalt in der Atemluft von Probanden nach Einnahme von undotiertem L-Arginin. Zur Übersichtlichkeit wurden die Messpunkte mit einem <i>B-Spline</i> verbunden. Die Messpunkte wurden im Online-Verfahren aufgenommen. Die Fehlerbalken repräsentieren die Abweichungen der einzelnen Atemzüge (siehe Abschnitt 4.3.1).	127
4-30	Die für die Online-Messungen angefertigte Atemmaske.	128
4-31	Schematischer Aufbau der Atemmaske.	129
4-32	Vergleich vom NO-Gehalt bei Mund- und Nasenatmung.	129
4-33	Atemzüge, die mit der maximalen Laser-Wiederholrate von 50 Hz aufgezeichnet wurden	130
4-34	Qualität und Quantität der NO-Konzentration von verschiedenen Probanden.	131

4-35 Schematischer Aufbau zur Untersuchung der NO-Emission der Haut.	132
4-36 Taubnessel	133
4-37 Christusdorn	133
4-38 Geranie (hängend)	133
4-39 Geranie (stehend)	133
4-40 Olivenbaum	133
4-41 Gerbera	133
4-42 Geldbaum	133
4-43 Birkenfeige	133
4-44 Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus zur Vermessung von Blättern.	134
4-45 Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus zur Vermessung von Blättern.	136
4-46 Der Einfluss der Gasmischung auf den NO-Ausstoß von Blättern. Die berech- nete Signalintensität bezieht sich auf das Signal bei reinem Stickstoff und trägt der Tatsache Rechnung, dass die Signalintensität nach Beimischung von Sauerstoff durch Fluoreszenzlöschung abnimmt.	136
4-47 Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus zur Vermessung von Blättern.	137
4-48 Der NO-Ausstoß eines Blattes vom Christusdorn.	138
4-49 Der NO-Ausstoß von mehreren Blättern verschiedener Pflanzen.	139
4-50 Illuminierte Spektrallampen bei verschiedenen Generatorleistungen.	140
4-51 Gemessene Abhängigkeit der Zündspannung von Druck und Elektrodenabstand.	140
4-52 Gemessenes Spektrum einer Spektrallampe.	141
4-53 Gemessenes Spektrum einer Spektrallampe im Vergleich zum simulierten Ab- sorptionsspektrum von NO.[62]	142
4-54 Die druckabhängige Lichtintensität der Spektrallampen. Zur besseren Über- sicht wurden die Messpunkte mit einem <i>Spline</i> verbunden.	142
4-55 Die leistungsabhängige Lichtintensität bei verschiedenen Drücken. Zur besse- ren Übersicht wurden die Messpunkte mit einem <i>B-Spline</i> verbunden.	143
7-1 Die simulierten Übergänge 1.	159
7-2 Die simulierten Übergänge 2.	160
7-3 Die simulierten Übergänge 3.	161

Tabellenverzeichnis

2-1	Global vorkommende NO _x -Quellen und deren anthropogener Anteil.[47] . . .	10
2-2	Die Populationen der Rotationszustände von NO bei 298 K.	19
2-3	Die Nomenklatur der möglichen Übergänge.	25
2-4	Spektroskopische Konstanten von NO.[60, 62, 66, 67]	32
2-5	Rotationsisotopenshift für die Bandenköpfe der acht Hauptzweige in cm^{-1} . .	34
2-6	Besetzungsanteile der beobachteten ¹⁵ NO-Übergänge.	39
2-7	Fluoreszenzlöschungskonstanten einiger Moleküle für T=298K.[43, 76]	56
2-8	Zusammensetzung der Atemluft und Fluoreszenzlöschungskonstanten bezogen auf den relativen Anteil.	56
2-9	Zusammensetzung der Laborluft und Fluoreszenzlöschungskonstanten bezo- gen auf den relativen Anteil.	56
2-10	Zusammensetzung des Prüfgases und Fluoreszenzlöschungskonstanten bezo- gen auf den relativen Anteil.	56
2-11	Für die Simulation der druckabhängigen Signalintensität benötigte Daten. . .	57
2-12	Theoretische Signalabschwächung durch Fluoreszenzlöschung bei verschiede- nen Gasmischungen.	58
2-13	Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]	71
2-13	Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]	72
2-13	Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]	73
2-13	Einige in der Atemluft enthaltene Gase und Spurengase[91–93]	74
4-1	Die aus der Anpassung an die in Abb 4-7 dargestellten Messwerte resultieren- den Parameter.	100
4-2	Relative Intensität (%) bezogen auf das Signal ohne Fluoreszenzlöschung. . .	101
4-3	Experimentell ermittelte Fluoreszenzlöschungskonstanten.	103
4-4	Die aus der Anpassung an die in den Abbildungen 4-12 und 4-13 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter.	107
4-5	Die aus der Anpassung an die in der Abbildung 4-19 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter.	114

4-6	Die aus der Anpassung an die in der Abbildung 4-21 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter	116
4-7	Die zeitabhängige Varianz der Spannungsquellen.	117
4-8	Die aus der Anpassung an die in den Abbildungen 4-25 und 4-26 dargestellten Messwerte resultierenden Parameter.	122
4-9	Die von Blättern einer Taubnessel ausgestoßene Menge an NO.	134
7-1	Die im Umfang dieser Arbeit untersuchten Probanden.	158

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Gericke für die Möglichkeit, diese Arbeit anzufertigen, seine freundschaftliche Art der Betreuung und für seine ständige Gesprächsbereitschaft.

Ich danke Herrn Dr. Christof “Don” Maul für seine unendliche Geduld und die Fähigkeit, komplexe Zusammenhänge einfach darzustellen. Darüberhinaus kann der Don durch Handauflegen oder bloße Anwesenheit ein Experiment zum Laufen bringen.

Ich danke meinem Nachfolger Christoph “Mitsch” Mitscherling für seinen Sachverstand und die vielen kontroversen Diskussionen. Außerdem danke ich ihm, dem Don und Andreas Schenk für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts.

Ich danke Christian “MC” Schrader, Niels “Retro” Gödecke und Bülent “Büli” Peker für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, die weit über ein Arbeitsverhältnis hinausging.

Ich danke Frau Dr. Raluca Niesner und Sebastian Kauczok für ihren unerschöpflichen mathematischen Sachverstand.

Ich danke dem Rest der Arbeitsgruppe für die lockere Umgangsform.

Ich danke Frau Volkert für die Einführung in komplexe deutsche bürokratische Vorgänge, vielleicht das komplizierteste Thema, mit dem ich mich während meiner Promotion auseinandersetzen musste.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Peter Jomo Walla für die Übernahme des 2. Referats.

Ich danke Herrn Karl-Peter Ahrens und Herrn Bernd Sladeczek für ihre präzisen und termingerechten Arbeiten.

Ich danke den vielen Studienarbeitern und Studienarbeiterinnen für ihr Engagement und ihre Mitarbeit.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie und meiner Freundin bedanken, die mich in vielfältiger Weise unterstützt haben.